

7 Die peripheren membranständigen Untereinheiten

7.1 Ein Überblick

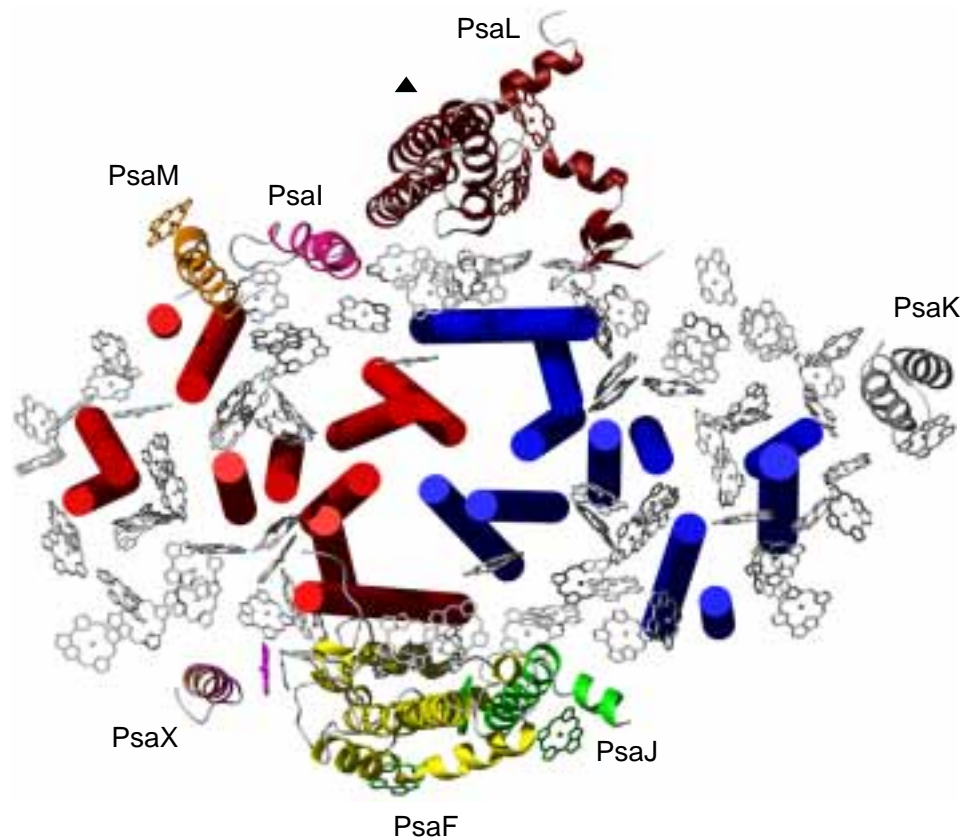


Abbildung 7.1: Die peripheren membranständigen Untereinheiten. Die transmembranären Helices von PsaA und PsaB sind als Zylinder dargestellt, die peripheren Untereinheiten als Spiralen. Chlorophylle, die von PsaA und PsaB koordiniert werden, sind hellgrau dargestellt, während die übrigen Chlorophylle in der Farbe der sie ligandierenden Untereinheit eingefärbt sind.

Die membranintegralen Untereinheiten PsaF, PsaI, PsaJ, PsaK, PsaL, PsaM und PsaX befinden sich außen an den beiden Untereinheiten PsaA und PsaB an der Peripherie des Komplexes (siehe Abbildung 7.1). Diese Untereinheiten lassen sich grob in zwei Gruppen einteilen: PsaI, PsaL und PsaM befinden sich auf der der Trimerachse zugewandten Seite (proximal) des PsaA/PsaB Heterodimers, während sich PsaF, PsaJ und PsaX an der der Trimerachse abgewandten Seite (distal) befinden. Eine besondere Stellung nimmt PsaK ein, da sich diese Untereinheit an der seitlichen Kontaktfläche zwischen zwei Monomeren befindet. Die peripheren Untereinheiten koordinieren selbst nur wenige Chlorophylle, scheinen jedoch z. T. den Chlorophyllgürtel und die Karotine zur Lipidmembran hin abzugrenzen. Interessant ist, daß neben den elf als gesichert angenommenen Untereinheiten von PS I auch die bisher umstrittene Untereinheit PsaX in der Elektronendichteverteilung

gefunden wurde.

7.2 PsaF

Die Untereinheit PsaF befindet sich an der distalen Seite des Komplexes in der Nachbarschaft zu PsaJ, PsaA, PsaB und PsaE. PsaF bildet das Gegenstück zu PsaL auf der distalen Seite. Mit den beiden Helices F-**h** und F-**i** erreicht der Proteinkomplex die größte radiale Ausdehnung (größter Abstand zur dreizähligen Achse).

In *Synechococcus el.* entspricht das Gen von PsaF eine Länge von 161 Aminosäuren, wobei die ersten 23 Aminosäuren als Signalsequenz dienen und beim Einbau der Untereinheit in die Thylakoidmembran entfernt werden (Mühlenhoff *et al.*, 1993). Folgerichtig ist die erste N-terminal modellierbare Aminosäure Aspartat F24.

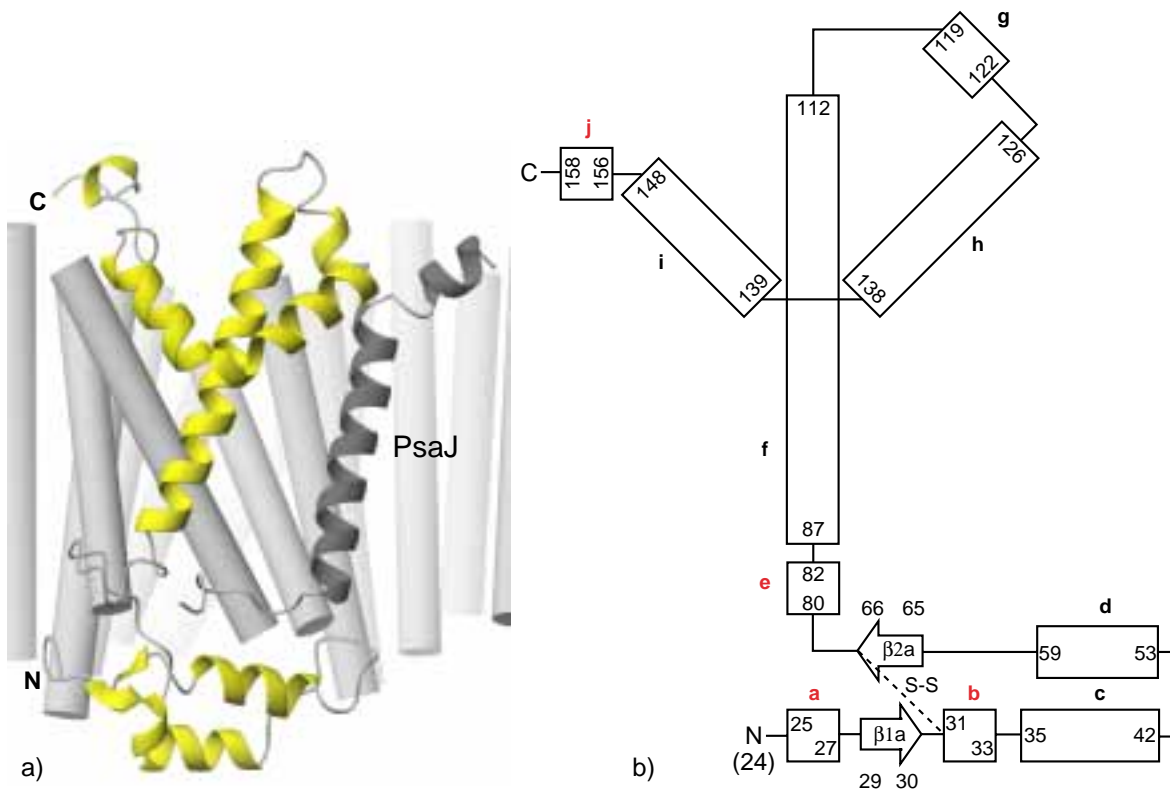


Abbildung 7.2: a) Untereinheit PsaF mit Umgebung. Rechts neben PsaF befindet sich die Untereinheit PsaJ. Gut zu erkennen ist die Nähe von PsaF und PsaJ auf der lumenalen Seite. b) Die Topographie der Untereinheit PsaF. Die Disulfidbrücke zwischen CysF31 und CysF66 ist als gestrichelte Linie eingezeichnet.

PsaF stellt von der Topographie her die ungewöhnlichste Untereinheit dar (siehe Abbildung 7.2). Der N-Terminus befindet sich auf der lumenalen Seite der Membran. Die beiden α -Helices F-**c** und F-**d** sind an der lumenalen Seite des Komplexes angeordnet

und verlaufen parallel zur Membranebene, ungefähr im rechten Winkel zu den α -Helices A/B-**ij(2)**. Diese beiden Helices bilden den am weitesten im Lumen des Komplexes gelegenen Bereich. PsaF besitzt nur eine transmembrane α -Helix (F-**f**). Daran schließt sich ein ungewöhnliches strukturelles Element an. Die beiden α -Helices F-**h** und F-**i** tauchen in entgegengesetzter Richtung mit einem Winkel von ca. 45° in das stromale Drittel der Membran ein, so daß sie gemeinsam die Form eines „V“ ergeben. Die α -Helix F-**h** ist zwischen den Aminosäuren F135 und F138 in Form einer 3_{10} -Helix verzerrt. Der sich anschließende C-Terminus befindet sich zwischen den Untereinheiten PsaA, PsaB und PsaE.

Die Elektronendichteverteilung von PsaF ist in den transmembranen und helicalen Bereichen gut und an der lumenalen Seite des Komplexes schlechter definiert. Dies führt dazu, daß in der lumenalen Region zwischen den Helices F-**a** und F-**e** die langen Seitenketten der geladenen Aminosäuren z. T. nicht zu modellieren sind oder hohe Temperaturfaktoren erhalten. Die Schlaufe **c-d** am schlechtesten definiert ($B=69 \text{ \AA}^2$).

Tabelle 7.1: Mögliche ionische Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen von PsaF. Links oben sind die ionischen Wechselwirkungen auf der lumenalen Seite eingetragen, rechts oben die Wechselwirkungen der Helices F-**h** und F-**i** (die ersten beiden Wechselwirkungen sind vermutlich ionischer Natur). Der untere Teil zeigt Wechselwirkungen im stromalen Bereich C-terminal der Helix F-**i**.

ionische WW lumenal		Abstand (\AA)	WW F-h/F-i		Abstand (\AA)
F57 Arg N η 2	B453 Glu O ϵ 1	2,8	F105 Arg N η 2	F146 Glu O ϵ 2	3,2
F57 Arg N η 1	J35 Asp O δ 2	2,8	F120 Lys N ζ	F125 Asp O δ 2	3,4
F73 His N	B459 Glu O ϵ 2	2,4	F95 Tyr O η	F137 Phe O	3,0
F73 His N	F69 Asp O δ 2	2,7	F99 Trp N ϵ 1	F133 Met O	3,4
			(F125 Asp N	F107 Tyr O η	3,0)
			F136 Gly O	F139 Trp N	2,7
			F139 Trp N ϵ 1	F95 Tyr O	2,7
WW stromal		Abstand (\AA)			Abstand (\AA)
F151 Glu O	A712 Lys N ζ	3,1	F160 Thr O γ 1	B551 Lys N ζ	3,2
F154 Ala N	A710 Lys O	3,0	F162 Ser O γ	B418 Lys N ζ	2,5
F156 Asp O δ 2	A710 Lys N ζ	2,7	F164 Arg N η 2	B416 Gln O	3,0
F157 Asn O	E8 Lys N ζ	3,0	F164 Arg N η 2	B419 Glu O ϵ 1	2,6
F159 Ile O	E18 Asn N δ 1	3,2	F164 Arg O	B548 Arg N η 1	2,9
F160 Thr O γ 1	E17 Tyr O	2,9			

Die beiden Cysteinyl-Reste F31 und F66 bilden die einzige im PS I-Komplex vorhande-

ne Disulfidbrücke aus. Sie trägt dazu bei, die lumenale Schlaufe zu stabilisieren. In dieser Schlaufe gibt es vier mögliche ionische Wechselwirkungen (s. Tab. 7.1). Arginin F57 befindet sich in der Nähe von Glutamat B453 und Aspartat J35. Dies kann den äußeren Teil der lumenalen Schlaufe stabilisieren (rechts unten in Abb. 7.2). Histidin F73 liegt benachbart zu Glutamat B459 und Aspartat F69. Wahrscheinlich ist das Histidin protoniert und kann so in ionische Wechselwirkung zu den beiden negativ geladenen Resten treten, wodurch auch der innere Teil der Schlaufe stabilisiert würde.

Die Aminosäuren der beiden α -Helices F-h und F-i gehen hauptsächlich Wechselwirkungen mit der dahinter liegenden transmembranen Helix F-f ein (Tabelle 7.1). Dabei scheint den H-Brücken zwischen TyrF95, TrpF99 und TrpF139 eine große Bedeutung zuzukommen, da diese sich sämtlich an der Spitze des „V“ befinden. Neben diesen Wechselwirkungen bestehen noch zwei ionische Interaktionen am C-terminalen und am N-terminalen Ende von F-i.

Die Wasserstoffbrückenbindung zwischen F136 und F139 sorgt für eine Stabilisierung der relativen Orientierung der beiden Helices F-h und F-i. Mittels Quervernetzungsuntersuchungen konnte auf die räumliche Nähe von PsaF zu PsaE geschlossen werden (Armbrust *et al.*, 1996). Tatsächlich finden sich im stromalen Bereich von PsaF, im Anschluß an Helix F-i einige Wechselwirkungen mit PsaA, PsaB und PsaE (s. Tabelle 7.1). Die C-terminale Aminosäure von PsaF, Arginin F164, bildet eine ionische Wechselwirkung mit Glutamat B419 aus, wodurch der C-Terminus auf der stromalen Seite fixiert wird.

Über die Funktion von PsaF herrschte lange Zeit Uneinigkeit. So konnte in Cyanobakterien Cytochrom c_6 mit PsaF quervernetzt werden (Wynn *et al.*, 1989b). Dies ist analog zu Versuchen an Mais, bei denen PsaF mit Plastocyanin quervernetzt wurde (Wynn *et al.*, 1989a). In Spinat konnte beobachtet werden, daß mit dem Herauslösen von PsaF aus PS I gleichzeitig die $P700^+$ Reduktion durch Plastocyanin abnahm (Bengis & Nelson, 1977). Versuche an *Synechocystis* PCC6803 zeigten hingegen, daß die Entfernung von PsaF aus dem PS I Komplex keinen Einfluß auf das Wachstum und auf die Rereduktion des primären Donors hatte (Chitnis *et al.*, 1991). Dieser Widerspruch wurde 1997 aufgelöst, als Hippler *et al.* (Hippler *et al.*, 1997) zeigen konnten, daß der Unterschied auf der N-terminalen Verlängerung der Aminosäuresequenz in höheren Pflanzen und Algen beruht. Dies konnte durch Austausch der N-terminalen Sequenz von PsaF aus *Synechococcus el.* bestätigt werden. Nach der Insertion des N-Terminus von PsaF aus *Chlamydomonas reinhardtii* in die Sequenz von *Synechococcus el.* zeigten die cyanobakteriellen Hybridmutanten ein ähnliches Bindungsverhalten für Plastocyanin und Cytochrom c_6 aus Algen,

wie die *Chlamydomonas reinhardtii* Organismen. Betrachtet man die Überlagerung der Aminosäuresequenzen verschiedener Organismen (Abbildung 7.3 auf Seite 69), so findet man neben der erwähnten Verlängerung des N-Terminus auch eine zwanzig Aminosäuren lange Insertion in höheren Pflanzen und Algen. Diese Insertion läßt sich am besten in der Nähe der ersten größeren lumenalen Helix F-c positionieren, da sich bei dieser Anordnung möglichst viele konservierte Aminosäuren vor und nach der Insertion befinden. Am N-terminalen Beginn von Helix F-c befindet sich Prolin F35. Dies sorgt für einen scharfen Knick im Hauptkettenverlauf und dreht die Helix senkrecht zu den α -Helices A/B-ij(2). Die Helix F-c liegt an der Innenseite des Komplexes und ist der vermutlichen Cytochrom c_6 -Bindungstasche zugewandt. Der Bereich N-terminal vor Helix F-c und um den β -Strang $\beta 2a$ ist unter allen Organismen gut konserviert. Insbesondere sind die beiden an der Disulfidbrücke beteiligten Cysteine in allen Organismen vorhanden. Diese Vielzahl von Übereinstimmungen an strukturell wichtigen Positionen deutet auf eine ähnliche Faltung dieses Bereiches in allen Organismen hin. Damit könnte die Hauptkette für die, in höheren Pflanzen gefundene, Insertion hinter Helix F-c nur in Richtung der Bindungstasche verlaufen und insbesondere die in diesem Sequenzabschnitt zahlreichen positiv geladenen Aminosäuren näher an die Bindungstasche heranzuführen, wodurch die stärkere Bindung von pflanzlichem Plastocyanin an den Komplex erklärt würde.

Da sich die stärksten Wechselwirkungen von PsaF und PsaJ zwischen dem C-Terminus von PsaJ und Helix F-d befinden, könnte eine Entfernung von PsaJ den N-Terminus von PsaF derangieren und für eine schlechtere Plastocyanin-Oxidation verantwortlich sein. Dies wird auch durch Mutationsstudien an *Chlamydomonas reinhardtii* unterstützt (Fischer *et al.*, 1999).

In PsaF findet sich keine Aminosäure, die ein Chlorophyll axial ligandiert. Dies steht im Widerspruch zu Arbeiten, die eine Bindung von Antennenchlorophyllen an diese Unter-einheit vorhersagen (Preiss *et al.*, 1993). Allerdings schirmt PsaF einen Teil der Antennenpigmente von der Lipidphase ab und tritt mit einigen Chlorophyllen in Wechselwirkung. So bildet Tryptophan F99 eine Wasserstoffbrücke mit der 13^1 -Ketogruppe von aC-J1 aus. Phenylalanin F93 befindet sich nur $3,0 \text{ \AA}$ von aC-B29 entfernt. Die Ringsysteme beider Partner sind in etwa parallel ausgerichtet und könnten in π - π Wechselwirkung treten. Ferner liegen in der Nähe von PsaF einige Phytlyseitenketten von Antennenchlorophyllen, und die Hälfte der Karotinoide von Cluster (6) wird von PsaF durch hydrophobe Wechselwirkungen gebunden. Daher hat PsaF einen großen Einfluß auf die Stabilität des Antennensystems an der distalen Seite des Komplexes, obwohl es selbst keine axialen

Liganden stellt.

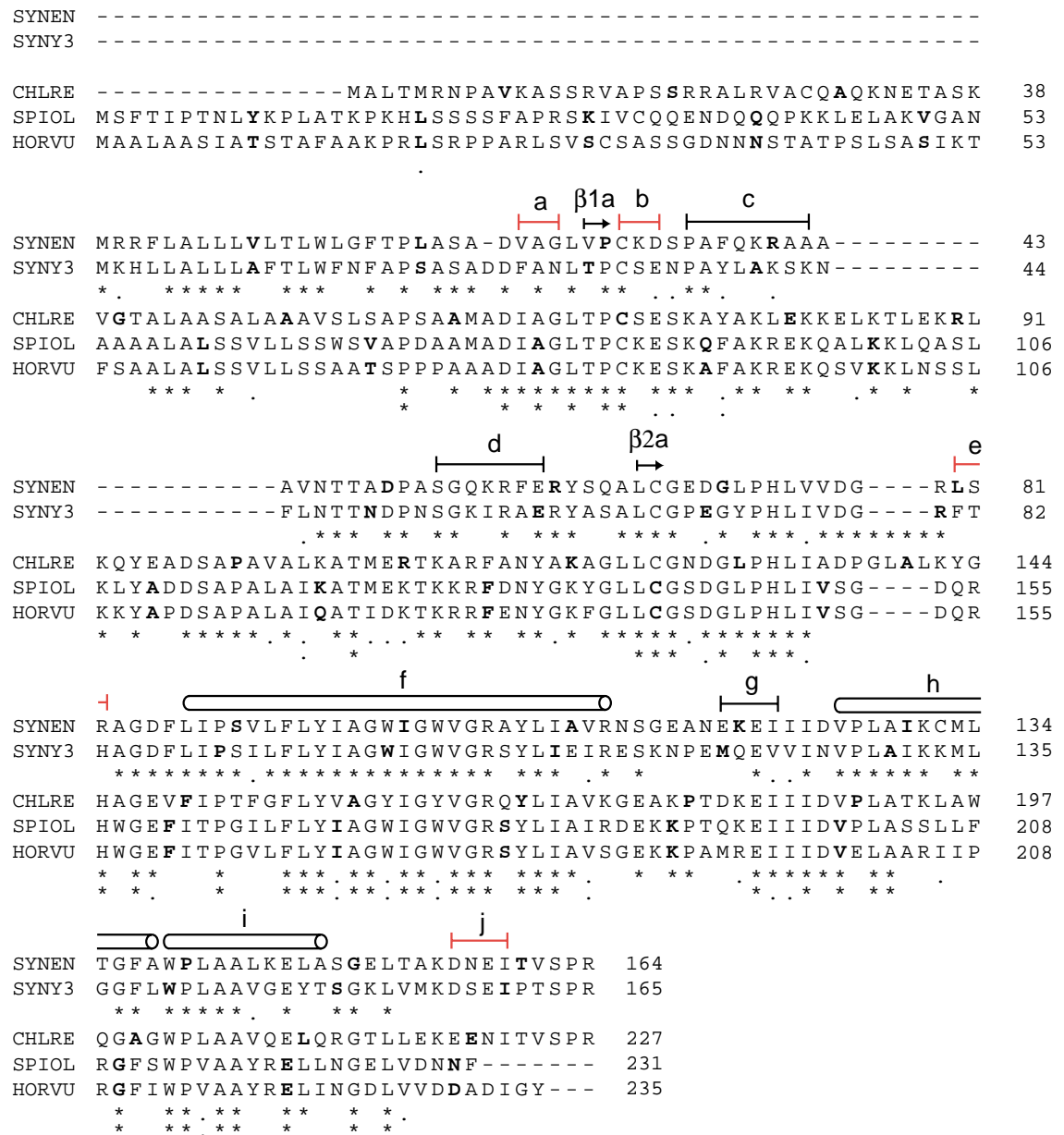


Abbildung 7.3: Überlagerung der Aminosäuresequenzen der Untereinheit *PsaF* aus verschiedenen Organismen. **SYNEN** *Synechococcus el.* (Mühlenhoff et al., 1993), **SYNY3** *Synechocystis sp.* PCC 6803 (Chitnis et al., 1991), **CHLRE** *Chlamydomonas reinhardtii* (Franzen et al., 1989a), **SPIOL** *Spinacia oleracea* (Steppuhn et al., 1988), **HORVU** *Hordeum vulgare* (Anandan et al., 1989). Jede zehnte Aminosäure ist fett gedruckt. Für eine Erklärung der verwendeten Symbole s. Abschnitt 5.1.

7.3 PsaI

Die Untereinheit PsaI befindet sich an der Monomer-Monomer-Kontaktfläche neben PsaB. Entlang der Kontaktfläche ist PsaI zwischen PsaM und PsaL positioniert. Ähnlich wie PsaM besteht auch PsaI im wesentlichen nur aus einer transmembranen α -Helix. Diese Helix weist in Höhe von I20 einen Knick auf, so daß im Zuge einer Sekundärstrukturanalyse statt einer zwei Helices gefunden werden. Da diese Verkipfung jedoch schwach ausfällt, zeigen die Abbildungen in dieser Arbeit nur eine transmembrane α -Helix für PsaI, die von I10 bis I35 reicht. Der N-Terminus von PsaI befindet sich auf der lumenalen, der C-Terminus auf der stromalen Seite.

Die Aminosäuresequenz von PsaI aus *Syn. el.* besitzt eine Länge von 38 Aminosäuren (Mühlenhoff *et al.*, 1993). Die Sequenz ist unter den Cyanobakterien und z.T. auch

		
SYNEN	MMGSYAASF L PWIFIPVVC W LMPTVVMGL L FLYIEGEA--	38
SYNY3	MDGSYAASY L PWILIPMVG W LFPVAVTMGL L FIHIESEGE G	40
SYNP2	MNGAYAASF L PVILVPLAG V VFPALAMGL L FNIESDA--	38
HORVU	MTDLN----L P S I F V PLVGLV F PA I AMTSLFLY V QKKK I V	36
SPIOL	MNF----- P S I F V PLVGLV F PA I -----	18
	* * * . * * . . * . * * *	

Abbildung 7.4: Überlagerung der Aminosäuresequenzen der Untereinheit PsaI aus verschiedenen Organismen. **SYNEN** *Synechococcus el.* (Mühlenhoff *et al.*, 1993), **SYNY3** *Synechocystis sp.* PCC 6803 (Xu *et al.*, 1995), **SYNP2** *Synechococcus sp.* PCC 7002 (Schluchter *et al.*, 1996), **HORVU** *Hordeum vulgare* (Scheller *et al.*, 1989), **SPIOL** *Spinacia oleracea* (Ikeuchi *et al.*, 1990). Die Sequenz von PsaI aus *Spinacia oleracea* liegt nicht vollständig vor, so daß über die Länge der Sequenz keine Aussage getroffen werden kann. Jede zehnte Aminosäure ist fett gedruckt. Für eine Erklärung der verwendeten Symbole s. Abschnitt 5.1.

höheren Pflanzen gut konserviert (s. Abbildung 7.4). Am N-Terminus der cyanobakteriellen Untereinheiten befinden sich zwei bis drei potentiell negativ geladene Aminosäuren (GluI35 und GluI37). GluI35 ist 3,9 Å von Arginin B19 (N η 2) und 3,4 Å von Lysin B700(N ζ) entfernt. GluI37 ist 2,7 Å vom terminalen Stickstoffatom N ζ von Lysin B700 entfernt und 4,5 Å von Lysin L203. Obwohl diese Paare von Aminosäuren weit voneinander entfernt sind, könnte diese neben den in Tabelle 7.2 angegebenen Wasserstoffbrückenbindungen eine Rolle bei der Anbindung des C-Terminus an den Komplex spielen. Mit einem Abstand von 2,5 Å kommen sich die Kopfgruppen von Aspartat I35 und Aspartat B701 sehr nah. Da sie aber nur im ungeladenen Zustand eine Wasserstoffbrücke ausbilden können, scheint dies aufgrund der benachbarten positiv geladenen Aminosäuren in diesem Fall unmöglich.

Der deutlichste Unterschied zwischen PsaI aus prokaryontischen und eukaryontischen

Tabelle 7.2: Mögliche ionische Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen zwischen PsaI und anderen Untereinheiten.

Donor	Akzeptor	Abstand (Å)
B69 Trp N ϵ 1	I6 Ala O	2,7
I7 Ala N	M5 Asp O δ 1	2,8
I12 Trp N ϵ 1	L146 Asp O δ 1	2,8
B19 Arg N η 2	I34 Ile O	2,7
B700 Lys N ζ	I35 GLu O	2,8
B3 Lys N	I36 Gly O	2,9
I37 Glu N	L102 Gln O ϵ 1	2,6
I38 Ala N	B1 Ala O	2,7

Organismen liegt in eben diesen geladenen C-terminalen Aminosäuren. An Stelle der sauren Aminosäuren in Cyanobakterien liegen in höheren Pflanzen basische Aminosäuren vor (s. Abbildung 7.4). Ist PsaI in höheren Pflanzen in der gleichen Richtung in den Komplex integriert wie in Cyanobakterien, so befinden sich die drei Lysine (I32 bis I34 in *Hordeum vulgare*) in einer ohnehin schon sehr basischen Region (s. o.), die zwischen allen Organismen stark konserviert ist. Über die Auswirkungen dieser Wechselwirkung auf die Bindung von PsaI an den Komplex kann auch anhand des Strukturmodells keine Aussage getroffen werden.

Funktionell ist wenig über PsaI bekannt. Untersuchungen an mutierten *Synechocystis* PCC 6803-Organismen zeigten, daß eine Entfernung von PsaI den Anteil der Trimere gegenüber dem der Monomere herabsetzt und zu einer Destabilisierung von PsaL in den monomeren Komplexen führt (Xu *et al.*, 1995). Im Strukturmodell ist nur eine Wasserstoffbrückenbindung (zwischen GluI37 und GlnL102) und eventuell eine ionische Wechselwirkung (zwischen LysL103 und GluI37) zwischen PsaI und PsaL zu erkennen. Da die transmembrane Helix von PsaI nicht parallel zur Helix L-e verläuft, kommen sich diese beiden Helices nur an der stromalen Seite nahe genug, um wenige van der Waals Kontakte auszubilden. Das Karotinoid Car19 befindet sich sowohl mit PsaI als auch PsaL in van der Waals Kontakt. Dadurch könnte ein weiterer indirekter Einfluß von PsaI auf die Stabilität von PsaL erklärt werden. Zusätzlich befindet sich PsaI in van der Waals Kontakt zu den zwei Karotinoiden Car18 und Car20. Antennenchlorophylle werden von PsaI nicht koordiniert, wohl befinden sich aber einige Atome von Phytlyseitenketten der Antennenchlorophylle in van der Waals Kontakt zu PsaI. PsaI scheint somit ähnlich wie

PsaM eine indirekte Rolle bei der Stabilisierung des Komplexes zu spielen.

7.4 PsaJ

Die Untereinheit PsaJ besitzt in *Synechococcus el.* eine Länge von 41 Aminosäuren, deren Sequenzen zwischen den in Abbildung 7.6 angegeben Organismen zum Teil konserviert sind. PsaJ ist an der distalen (der Trimererisierungsdomäne abgewandten) Außenseite des Komplexes neben PsaF lokalisiert. Der N-Terminus befindet sich an der stromalen Seite, der C-Terminus im Lumen (s. Abbildung 7.5), wobei das N-terminale Methionin nicht in die Elektronendichte modelliert werden konnte.

Die Sekundärstruktur wird hauptsächlich von einer transmembranen α -Helix (J-b) bestimmt, die von Alanin J11 bis Phenylalanin J32 verläuft. N-terminal davor befindet sich noch eine weitere α -Helix (J-a), die von Lysin J2 bis Tyrosin J7 verläuft.

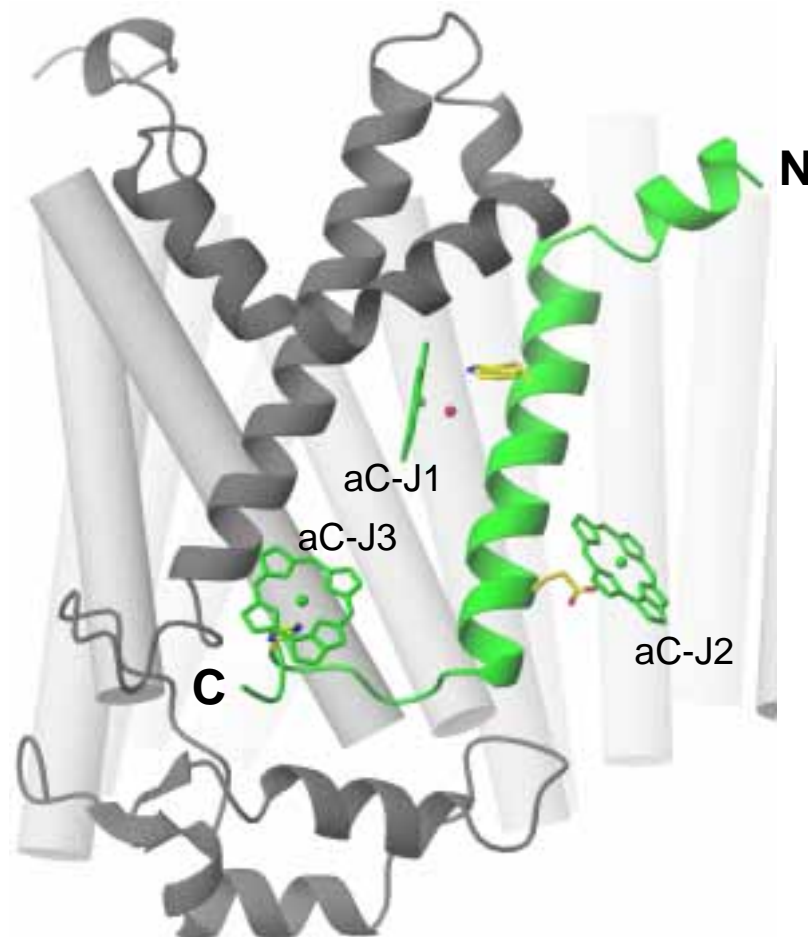


Abbildung 7.5: Die Untereinheit PsaJ mit Umgebung. Links neben PsaJ befindet sich die Untereinheit PsaF (graue Spiralen). Gut zu erkennen ist die Nähe von PsaJ und PsaF auf der lumenalen Seite (im Bild unten). Die drei von PsaJ gebundenen Chlorophylle sind in grün eingzeichnet.

Die Elektronendichteverteilung von PsaJ ist nicht besonders gut definiert; der durchschnittlichen Temperaturfaktor beträgt $66,35 \text{ \AA}^2$. Dabei ist die transmembrane Helix der

am besten geordnete Teil von PsaJ. Die C-terminale Schlaufe, die annähernd parallel zur Helix F-d verläuft, ist der am schlechtesten definierte Teil.

Die Untereinheit koordiniert axial drei Chlorophylle des Antennensystems: aC-J1 über ein Wassermolekül an ThrJ22, aC-J2 über das Glutamat J28 und eC-J3 über das Histidin J39. Aufgrund der Flexibilität des Proteins an der Außenseite sind die Elektronendichten der Chlorophylle aC-J2 und aC-J3 schlecht definiert. Daher läßt sich deren exakte Orientierung nicht mit letzter Gewißheit bestimmen. Von den die Chlorophylle koordinierenden Aminosäuren ist nur GluJ28 streng unter allen Spezies konserviert. Die anderen beiden Chlorophyll koordinierenden Aminosäuren existieren hingegen in höheren Pflanzen nicht und sind auch nicht durch Aminosäuren ausgetauscht, die potentielle Koordinationspartner für Chlorophyllmoleküle darstellen. Das Glutamat J28 befindet sich in direkter Nähe (2,8 Å) zu ArgJ31, wahrscheinlich liegt es daher deprotoniert vor. Die Nähe der geladenen Aminosäuren könnte einen Einfluß auf die spektralen Eigenschaften von Chlorophyll aC-J2 haben (s. Abschnitt 10.1.1). Die Ringebene von Tryptophan J18 ist ungefähr senkrecht zur Porphyrinebene von aC-J1 orientiert. Auf der anderen Seite von aC-J1 befindet sich das Tryptophan F76. Über die Auswirkungen dieser ungewöhnlichen Umgebung des Chlorophylls auf dessen spektrale Eigenschaften kann jedoch keine Aussage getroffen werden.

Tabelle 7.3: Mögliche Wasserstoffbrückenbindungen zwischen PsaJ und anderen Untereinheiten.

Donor	Akzeptor	Abstand (Å)
Ile F124 N	Ser J9 O	3,0
Ala J11 N	Ile F122 O	2,7
Tyr F61 OH	Asp J35 O	2,6
His J39 N	Gly F61 O	2,6
Gln F63 Nε2	Pro J40 O	2,9

Mit den umliegenden Untereinheiten PsaF und PsaB bilden die Aminosäuren von PsaJ nur wenige Wasserstoffbrückenbindungen und ionische Wechselwirkungen aus (siehe Tabelle 7.3). So befindet sich Aspartat J35 2,8 Å entfernt von Arginin F57 und 3,1 Å entfernt von Lysin B454. Im C-terminalen Bereich können noch drei Wasserstoffbrückenbindungen ausgebildet werden. Am N-terminalen Ende werden ausgehend von Serin J9 und Alanin J11 zwei weitere Wasserstoffbrücken zwischen PsaF und PsaJ ausgebildet. Die Untereinheit formt im Verlauf der transmembranen Helix kaum hydrophobe Wechselwirkungen mit benachbarten Untereinheiten. Allerdings befinden sich zwei Karotinoide von Cluster (5) (s. Abschnitt 10.2), nämlich Car13 (verläuft parallel zur transmembranen Helix)

und Car12 in van der Waals Kontakt zu PsaJ. Außerdem befinden sich einige Phytylseitenketten von Chlorophyllen im van der Waals Abstand zum Protein. Dies wird zur Verankerung der Untereinheit im Komplex beitragen. Die Wasserstoffbrückenbindungen am C-Terminus (ab J35) und am N-Terminus (J11, J9) fixieren PsaJ zusätzlich an den anderen Untereinheiten.

Funktionell kann PsaJ in *Synechococcus el.* deshalb als Antennenchlorophyll-bindende Untereinheit bezeichnet werden. Neben der direkten Bindung der Antennenchlorophylle schirmt es teilweise auch weitere Chlorophylle (aC-A7, aC-B30, aC-A1) von der Thylakoidmembran ab und trägt dadurch zur Stabilität des Antennensystems bei.

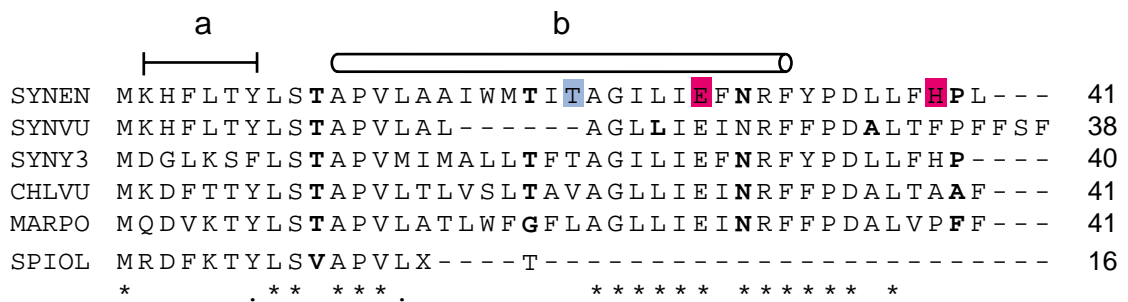


Abbildung 7.6: Überlagerung der Aminosäuresequenzen der Untereinheit PsaJ aus verschiedenen Organismen. **SYNEN** *Synechococcus el.* (Mühlenhoff *et al.*, 1993), **SYNVU** *Synechococcus vulcanus* (Koike *et al.*, 1989), **SYNY3** *Synechocystis sp.* PCC 6803 (Kaneko *et al.*, 1996), **CHLVU** *Chlorella vulgaris* (Wakasugi *et al.*, 1997), **MARPO** *Marchantia polymorpha* (Leberblümchen) (Fukuzawa *et al.*, 1988), **SPIOL** *Spinacia oleracea* (Ikeuchi *et al.*, 1990). PsaJ aus *Spinacia oleracea* wurde nur N-terminal ansequenziert, so daß die genaue Länge nicht bekannt ist. Jede zehnte Aminosäure ist fett gedruckt. Für eine Erklärung der verwendeten Symbole s. Abschnitt 5.1.

7.5 PsaK

		a	
SYNEN	-----MVLAT-LPDT T -----	WT-PSVGLVV	19
SYNVU	-----MVLATTL P DT T -----	WT-PSVGLVV	20
SYNY3	-----MHSFLLATA V PATLS-----	WS-PKVAGVM	24
	* * * * *	* * * *	
CHLRE	-----MQALAT-RPS A IRPTKAARR S SVVVRADGFIGSSTNLIM		38
SPIOL	-----GDFIGSSTNLIM		12
HORVU	MASQLSAMTS V PQ F HGLR T YSSPRSMATL P SLRRRRSQGI R CDYIGSSTNLIM		53
	* * *	* * * * * *	
SYNEN	I LCNLF A I A L G RYAIQS---RG K GPGL P I A LP A -----LFEGFGL P ELL A		61
SYNVU	I L SNLF A I A L G RYAIQS---RG K GPGL P I A LP A -----LFEGFGL P ELL A		62
SYNY3	I A CN I L A I A FGK L T I K Q ---Q N V G --T P M P S S -----N F F G G F GL G AV L G		64
	* * . * * * * *	* * * * *	
CHLRE	V ASTTATL A AAR F GLAPT V KK N TTAGL K L V DS K NSAG V IS N D P AG F T I VD V L A		91
SPIOL	VTSTTL M L F AG R F G L X P-----		29
HORVU	VTTTTL M L F AG R F G L P SAN R KATAG L K L E A --RES G L Q T G D P AG F T L AD T L A		104
	* * * * *	* * * * * *	
		b	
SYNEN	TTSFG L LAAGVVSG-LQY A GAL-----		83
SYNVU	TTSFG H LLAAGVVSVGL Q YAGAL-----		85
SYNY3	TASFG H ILGAGVILG-LAN M GV L -----		86
	* * * * * *	* * *	
CHLRE	MGAAG H GL G VGIVLG-L K G I GAL-----		113
SPIOL	-----		
HORVU	CGAV G H I M G VGIVLG-L K NT G VLD Q I I G		131
	* * * * * *	* * *	

Abbildung 7.7: Überlagerung der Aminosäuresequenzen der Untereinheit PsaK aus verschiedenen Organismen. **SYNEN** *Synechococcus el.* (Mühlenhoff *et al.*, 1993), **SYNVU** *Synechococcus vulcanus* (Koike *et al.*, 1989), **SYNY3** *Synechocystis sp.* PCC 6803 (Kaneko *et al.*, 1996), **CHLRE** *Chlamydomonas reinhardtii* (Franzen *et al.*, 1989b), **SPIOL** *Spinacia oleracea* (Hoshina *et al.*, 1989), **HORVU** *Hordeum vulgare* (Kjaerulff *et al.*, 1993). Jede zehnte Aminosäure ist fett gedruckt. Für eine Erklärung der verwendeten Symbole s. Abschnitt 5.1.

Die Untereinheit PsaK befindet sich am Rand des Komplexes neben PsaA (s. Abb. 7.1). Aufgrund der Lage am äußeren Rand des Komplexes bildet PsaK trotz der Nähe zu einem benachbarten Monomer im PS I-Trimer keine Wechselwirkung mit dessen PsaB aus. Deshalb sollte PsaK sowohl in monomeren als auch in trimeren Komplexen gut für Solvensmoleküle zugänglich sein. Die Frage, warum sich PsaK nur aus monomeren und nicht aus trimeren Komplexen herauslösen läßt (Jekow *et al.*, 1995) kann vor diesem Hintergrund nicht beantwortet werden.

Von den zwölf Untereinheiten des PS I-Komplexes ist PsaK die einzige, deren Sequenz nicht vollständig modelliert werden konnte. Aufgrund der Position am Rande des Komplexes ist diese Untereinheit flexibel und die Elektronendichteverteilung dadurch schlech-

ter definiert als in anderen Bereichen der Struktur. Die Seitenketten der Aminosäuren konnten daher zumeist nicht modelliert werden, weshalb nur ein Polyalaninmodell der Untereinheit erzeugt wurde. Der Hauptkettenverlauf ist in den meisten Bereichen gut zu erkennen. Ausnahmen bilden der N-Terminus, der erst ab K20 zu erkennen ist, eine stromale Schlaufe, die ungefähr zwischen K32 und K55 verläuft, sowie das C-terminale Ende ca. ab K80, das zwar zu erkennen ist, bei der jedoch keine eindeutige Zuweisung der C $_{\alpha}$ Positionen möglich war. Der Verlauf der Hauptkette entlang der beiden möglichen transmembranen Helices ist hingegen gut zu erkennen und läßt teilweise (insbesondere bei Aminosäuren mit aromatischen Seitenketten) eine Zuordnung der Sequenz zu. Trotz der schlecht definierten Elektronendichteverteilung in diesem Bereich kann die Zuordnung zu PsaK als sicher erachtet werden, da eine Vielzahl von Argumenten für diese Zuordnung sprechen.

Hydrophobizitätsanalysen von PsaK verschiedener Organismen zeigen, daß PsaK zwei hydrophobe Bereiche besitzt, die transmembrane α -Helices ausbilden können (Golbeck, 1994). Diese liegen im Bereich von K10-K30 und K59-K77. Da man an der Peripherie des Proteins Elektronendichteverteilungen findet, die mit zwei benachbarten transmembranen Helices erklärt, aber keiner anderen Untereinheit zugeordnet werden können, liegt es nahe, diese PsaK zuzuordnen. Eine Positionierung an der Peripherie des Komplexes wird auch dadurch gestützt, das man PsaK in höheren Pflanzen mit keiner anderen der kleinen Untereinheiten quervernetzen kann (Armbrust *et al.*, 1996; Jansson *et al.*, 1996).

Eine Analyse der Elektronendichteverteilungen dieser Region zeigt, daß sich auf halber Höhe neben einer der beiden transmembranen α -Helices (K-**b**) ein Chlorophyll (aC-K1) befindet. Als axialer Ligand für aC-K1 kommt Histidin K67 in Frage. In stromaler Richtung dieser Helix findet sich neben der C $_{\alpha}$ Position der nächsten Aminosäure keine und an der übernächsten eine größere Elektronendichte. Dies steht in Einklang mit dem Sequenzmotiv PheK65/GlyK66/HisK67. Am lumenalen Ende dieser Helix finden sich zwei weitere voluminöse Elektronendichteverteilungen die den Aminosäuren GlnK78 und TyrK79 zugeordnet werden können. Auf Basis dieser Zuordnung muß sich die Verbindung zwischen dieser und der benachbarten Helix (K-**a**) auf der stromalen Seite befinden und somit der N-Terminus am Ende der zweiten Helix (K-**a**) auf der lumenalen Seite liegen. Dies deckt sich mit folgenden biochemischen Überlegungen: aufgrund einer sieben Aminosäure langen N-terminalen Präsequenz wurde angenommen, daß sich der N-Terminus im Lumen befindet (Golbeck, 1994). Zu dem gleichen Ergebnis kommt man, wenn man die Positiv-Innen-Regel (von Heijne, 1986) anwendet (Chitnis *et al.*, 1995).

Benachbart zu der Helix K-**a** findet man auf der luminalen Seite eine Quecksilberlage. Als einzig möglicher Ligand für das Quecksilberatom kommt in dieser Region nur das Cystein K22 in Frage. Diese Zuordnung erlaubt es auch, der Seitenkette der Aminosäure Phenylalanin K25 eine entsprechend große Elektronendichte zuzuordnen. Daher kann sicher gefolgert werden, daß es sich bei Helix K-**a** um die erste Helix von K10-K30 und bei Helix K-**b** um die zweite Helix K59-K77 handelt.

Aufgrund der nicht modellierten Aminosäuresequenz lassen sich keine detaillierten Angaben über die Wechselwirkungen zwischen PsaK und PsaA angeben. Dennoch ist zu erkennen, daß sich die stromale Schlaufe zwischen K-**a** und K-**b** benachbart zu den Aminosäuren A319 bis A322 (Schlaufe A-**d-de(1)**) befindet. PsaK scheint hauptsächlich durch hydrophobe Wechselwirkungen zwischen der Helix K-**b** und benachbarten Pigmenten (Car1, aC-A20, Phytlyseitenketten von aC-a15 und aC-A18) an den Komplex gebunden zu werden.

Bezüglich der Funktion von PsaK läßt sich nur wenig aus der Struktur ableiten. PsaK selbst ligandiert axial das Chlorophyll aC-K1 über Histidin K67 (s. o.). Dieses Histidin ist in allen verglichenen Spezies konserviert (s. Abbildung 7.7), so daß davon ausgegangen werden kann, daß sich dieses Antennenchlorophyll auch in den anderen Organismen findet. Ein weiteres Chlorophyll (aC-K2) befindet sich am C-Terminus von PsaK (in der Nähe von K72). Es ist jedoch kein Partner für eine axiale Ligandierung des zentralen Magnesiumions zu erkennen. PsaK befindet sich in der Nähe des Carotin-Clusters (1) (Wechselwirkung mit Carotin Car1) und einiger Chlorophylle des Antennensystems und schirmt diese zur Lipidschicht hin ab. PsaK kann also eine Funktion bei der Stabilisierung des Antennensystems in dieser Region spielen. Die Entfernung von PsaK aus dem Organismus *Synechococcus* PCC7002 zeigte jedoch keinen Einfluß auf das Wachstum des Organismus unter verschiedenen Bedingungen (W. M. Schluchter, D. A. Bryant pers. Mitteilung, zitiert in (Golbeck, 1994) und (Nakamoto & Hasegawa, 1999)). Der stabilisierende Einfluß scheint sich somit auf einen weniger essentiellen Teil des Antennensystems zu beschränken.

Im eukaryontischen PS I existiert eine Untereinheit PsaG, die eine starke Homologie zu PsaK aufweist (Kjaerulff *et al.*, 1993) und möglicherweise auf der zu PsaK symmetrischen gegenüberliegenden Seite des Komplexes positioniert ist. Wendet man die Rotationsmatrix, die PsaA in PsaB überführt, auf PsaK an, so liegt die so generierte Untereinheit direkt gegenüber von PsaK zwischen zwei Monomeren. Aufgrund der pseudozweizähligen Symmetrie würde die stromale Schlaufe der so generierten Untereinheit auch von den zu

A319 bis A322 homologen Aminosäuren B294 bis B297 gebunden. Weniger detailliert betrachtet, sind in diesem Bereich sowohl die Sequenzen als auch die Hauptkettenverläufe von PsaA und PsaB sehr ähnlich, so daß es auch von diesem Gesichtspunkt aus möglich wäre, daß es sich bei PsaG um die pseudosymmetrische Entsprechung von PsaK handelt. Ist PsaG tatsächlich zu PsaK pseudosymmetrisch, so stellt man fest, daß dies nicht der Grund für das ausschließliche Vorliegen von monomeren Komplexen in höheren Pflanzen sein kann. PsaG befände sich so weit an der Außenseite des Komplexes, daß es die Trimerbildung räumlich nicht stören würde. Quervernetzungsexperimente an höheren Pflanzen zeigen allerdings, daß sich PsaK und PsaG mit dem Lichtsammelkomplex LHC I quervernetzen (Jansson *et al.*, 1996) lassen. Es besteht also die Möglichkeit, daß die Bindung des Lichtsammelkomplexes für die Ausbildung der Monomere verantwortlich ist, da für dessen Anbindung im trimeren Komplex kein Raum besteht.

7.6 PsaL

Die Untereinheit PsaL ist eng mit der Frage nach dem Vorliegen trimerer und monomerer PS I Komplexe verknüpft (s. Abschnitt 7.9). Nach Hladik & Sofrova ist der trimere Komplex vermutlich das *in vivo* vorliegende Oligomer von PS I aus *Syn. el.* (Hladik & Sofrova, 1991), während in den Membranen von Eukaryonten nur monomere Komplexe vorliegen (für eine Übersicht s. Jansson, 1996). Bereits in der Kristallstruktur bei 6,0 Å Auflösung wurden transmembrane Helices in der Trimerisierungsdomäne gefunden. Diese wurden seinerzeit der Untereinheit PsaK zugeordnet (Krauß *et al.*, 1993). Durch Untersuchungen an einer Mutante aus *Synechocystis* PCC6803, der die Untereinheit PsaL fehlte, konnte eindeutig gezeigt werden, daß nicht PsaK, sondern PsaL für die Bildung des trimeren Komplexes verantwortlich ist (Chitnis *et al.*, 1993; Chitnis & Chitnis, 1993). Demzufolge wurden die zunächst PsaK zugerechneten Helices nun PsaL zugeordnet.

Abbildung 7.8 zeigt die Überlagerungen der Aminosäuresequenzen von PsaL aus verschiedenen Organismen. Die Primärstruktur von PsaL aus Cyanobakterien unterscheidet sich von der in höheren Pflanzen durch einen wesentlich kürzeren N-Terminus und das Fehlen einer ca. 13 Aminosäuren langen Insertion von L102 bis L103.

Eine Besonderheit betrifft den C-Terminus von PsaL. Die veröffentlichte, aus der Gensequenz abgeleitete Aminosäuresequenz von PsaL endet mit Alanin L147 (Mühlenhoff *et al.*, 1993). Nach der erfolgreichen Modellierung dieser Aminosäuren in die Elektronendichteverteilung verblieb am C-Terminus eine gut definierte positive Differenzelektronendichte mit einer Länge von ca. sieben Aminosäuren, die sich prinzipiell durch die letzten sieben Aminosäuren von PsaL aus *Synechocystis* PCC7002 erklären ließ. Eine erste Analyse der Gensequenz von PsaL aus *Syn. el.* zeigte, daß sich unter Berücksichtigung eines einfachen „frame shifts“ eine Aminosäuresequenz ergibt, die sieben Aminosäuren länger ist als die ursprüngliche Sequenz und die die Differenzelektronendichte gut erklären kann. Nach Rücksprache mit U. Mühlenhoff wurde von diesem die Gensequenz von PsaL erneut bestimmt, und tatsächlich wurde ein „frame shift“ an der vermuteten Stelle gefunden. Die aus der Gensequenz abgeleitete Sequenz stimmt nun in der Länge und in der Abfolge der letzten sieben Aminosäuren mit der aus der Röntgenstruktur abgeleiteten Sequenz überein.

Gemäß ihrer Funktion bei der Ausbildung des PS I Trimers liegt die Untereinheit nahe der dreizähligen Achse des Komplexes. Der N-Terminus von PsaL befindet sich im Stroma, der C-Terminus im Lumen (s. Abbildung 7.9). Die wesentlichen strukturellen Elemente bilden drei transmembrane α -Helices. Diese sind so angeordnet, daß Helix L-d

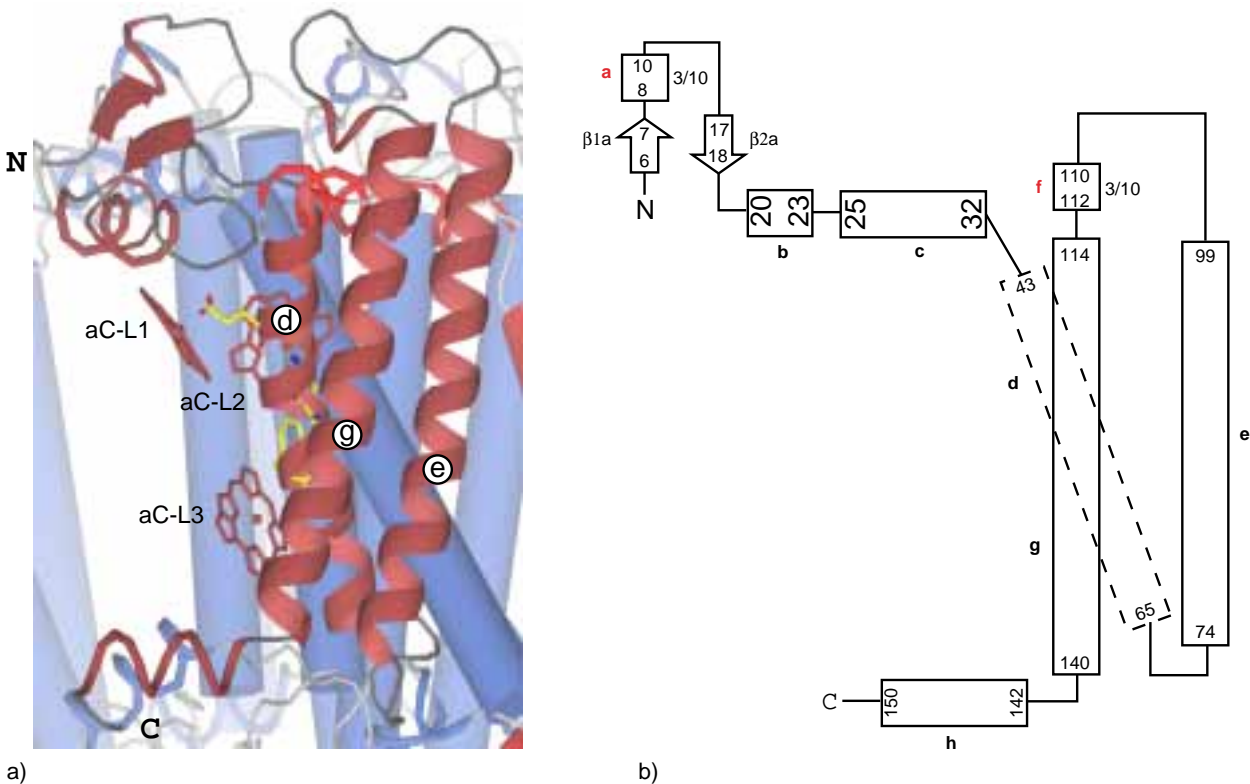


Abbildung 7.9: a) Die Untereinheit PsaL (braun) mit Umgebung. Im Hintergrund ist die Untereinheit PsaA (blau) zu erkennen. Bei den roten Helices im Hintergrund handelt es sich um die α -Helix B-jk(1) und die 3_{10} -Helix B-jk(2). b) Die Topographie der Untereinheit PsaL. α -Helix L-d ist gestrichelt eingezeichnet, um zu verdeutlichen, daß sie hinter den beiden anderen transmembranen Helices liegt.

nur innerhalb des „eigenen“ Monomers Kontakte ausbildet, während Helix L-e mit einem benachbarten Monomer und Helix L-g mit beiden Monomeren in Kontakt kommt. Die ersten drei Aminosäuren von PsaL konnten in der Elektronendichteverteilung nicht modelliert werden. Da die massenspektroskopischen Untersuchungen jedoch kein Maximum bei der Masse einer um drei Aminosäuren verkürzten Untereinheit PsaL zeigen (s. Abschnitt 4.1), kann davon ausgegangen werden, daß die ersten drei Aminosäuren fehlgeordnet sind.

An der stromalen Seite bildet PsaL eine von Aspartat L11 bis Histidin L16 verlaufende Schlaufe aus, an deren Spitze Phenylalanin L13 und Glycin L15 zwei Wasserstoffbrücken mit PsaD ausbilden (s. Tabelle 7.4 und Abschnitt 8.2). Die Faltung der Schlaufe wird durch die beiden am Beginn und am Ende der Schlaufe befindlichen kurzen Faltblattstränge β 1a und β 2a stabilisiert.

C-terminal der Helix L-c befindet sich die Aminosäure Tyrosin L37, die eine Wasserstoffbrückenbindung mit Leucin B693 ausbildet. Der Hauptkettenverlauf von PsaB weicht in

diesem Bereich von dem in PsaA ab. Diese Abweichung könnte die Ursache in eben dieser Wechselwirkung haben, die eine spezifische Bindung von PsaL ermöglicht.

Auf der luminalen Seite des Komplexes, in der Schlaufe, die die transmembranen α -Helices L-d und L-e verbindet, befindet sich das Arginin L69. 2,2 Å entfernt befindet sich

Tabelle 7.4: Mögliche ionische Wechselwirkungen und Wasserstoffbrückenbindungen zwischen PsaL und anderen Untereinheiten.

Donor	Akzeptor	Abstand (Å)
L4 Leu N	A335 Pro O	3,2
D17 Leu N	L13 Phe O	3,0
L15 Gly N	D17 Leu O	2,7
B686 Trp N ϵ 1	L15 Gly O	2,9
B690 Arg N ϵ	L15 Gly O	3,1
B693 Leu N	L37 Tyr O η	2,9
L69 Arg N η 2	A473 Asp O δ 1	2,2
B698 Arg N	L96 Tyr O η	2,8
L96 Tyr O η	B698 Arg O	3,4
I37 Glu N	L102 Gln O ϵ 1	2,6

das Aspartat A473. Die Wechselwirkung zwischen den beiden geladenen Aminosäuren stabilisiert zusätzlich die Position der transmembranen Helices von PsaL auf der luminalen Seite.

Die beiden Wasserstoffbrückenbindungen von Tyr L96 und Gln L102 stabilisieren vermutlich die Helix L-e auf der stromalen Seite.

Wie in der Einleitung zu diesem Abschnitt geschildert, besteht eine der Funktionen von PsaL in Cyanobakterien in der Bildung und Stabilisierung des trimeren Proteinkomplexes. Diese Funktion zeigt sich im Strukturmodell daran, daß PsaL nicht nur Wechselwirkungen innerhalb des eigenen Monomers, sondern auch mit benachbarten Monomeren ausbildet. Dieser Aspekt der Funktion von PsaL wird gesondert in Abschnitt 7.9 beschrieben.

Neben der Beteiligung von PsaL bei der Bildung bzw. Stabilisierung des Trimers besteht eine weitere Funktion der Untereinheit in der Bindung von Antennenpigmenten. Die in Helix L-d von PsaL befindlichen Aminosäuren Glutamat L49, Histidin L54 und Phenylalanin L57 stellen die axialen Liganden für die drei Antennenchlorophylle aC-L1 bis aC-L3. Es ist zu bemerken, daß PheL57 das Chlorophyll nicht über die Seitenkette, sondern mit dem Peptidsauerstoffatom über ein Wassermolekül koordiniert. Neben

den Antennenchlorophyllen befinden sich auch die Karotine Car19, Car20 und Car22 in van-der-Waals-Kontakt zu PsaL.

7.7 PsaM

Die Untereinheit PsaM ist mit einer Länge von 31 Aminosäuren die kleinste Untereinheit des Proteinkomplexes. PsaM konnte bisher nur in trimeren PS I-Komplexen aus Cya-

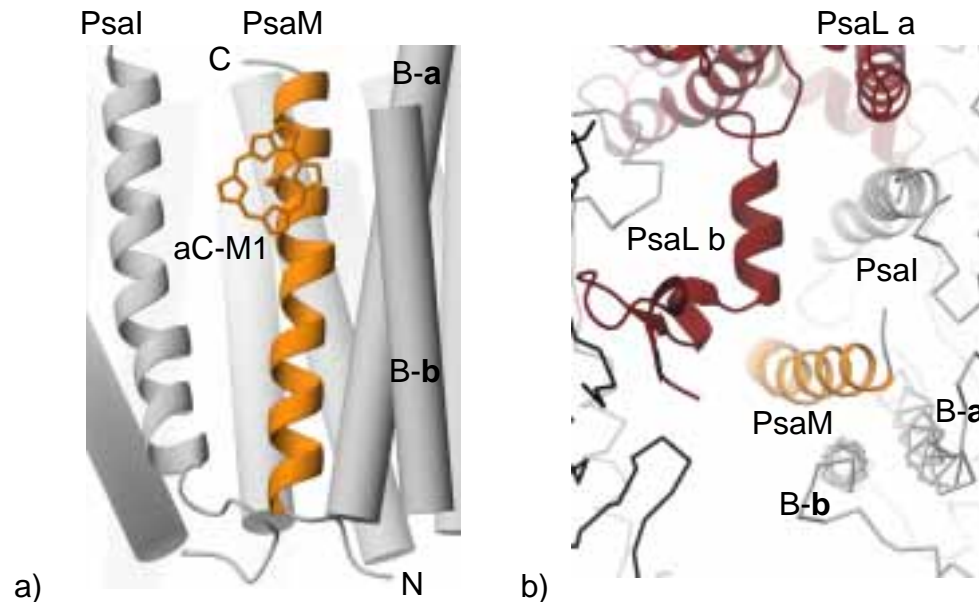


Abbildung 7.10: (a) Untereinheit PsaM mit Umgebung. Links neben PsaM befindet sich die Untereinheit PsaI. Rechts daneben die beiden transmembranen Helices B-a und B-b von PsaB. (b) Blick von der stromalen Seite auf die Monomer-Monomer-Kontaktfläche in der Nähe von PsaM. PsaL a und PsaL b bezeichnen die zum gleichen Monomer wie PsaM bzw. zum benachbarten Monomer gehörende Untereinheit PsaL.

nobakterien nachgewiesen werden, obwohl man eine entsprechende Gensequenz auch im Genom von Algen und höheren Pflanzen findet (Wakasugi *et al.*, 1994; Wakasugi *et al.*, 1997).

PsaM besteht im wesentlichen aus einer transmembranen α -Helix, die von M5 bis M25 reicht (s. Abbildung 7.10 a). Der N-Terminus befindet sich auf der lumenalen, der C-Terminus auf der stromalen Seite des Komplexes. PsaM ist auf halbem Radius des trimeren Komplexes zwischen zwei Monomeren neben der Untereinheit PsaB lokalisiert (s. Abbildung 7.10 b). Dabei gibt es jedoch keinerlei Wechselwirkung zwischen PsaM und dem benachbarten Monomer. Die transmembrane α -Helix von PsaM bildet auch nur wenige Kontakte zu anderen Untereinheiten desselben Monomers aus. So befindet sich PsaM benachbart zu den transmembranen Helices B-a und B-b und der transmembranen Helix von PsaI. Wasserstoffbrückenbindungen mit diesen Untereinheiten werden nur am N- und C-Terminus von PsaM ausgebildet (s. Tabelle 7.5). Die meisten hydrophoben Wechselwirkungen bildet PsaM mit dem Karotinoid Car21 aus, das zum Karotinoid Cluster (6)

gehört.

Tabelle 7.5: Mögliche Wasserstoffbrückenbindungen zwischen PsaM und anderen Untereinheiten.

Donor	Akzeptor	Abstand (Å)
M1 Met N	B74 Glu O ϵ 1	2,6
B131 Asn N δ 2	M1 Met O	3,0
I7 Ala N	M5 Asp O δ 1	2,8
B135 Tyr O η	M7 Gln O	2,5
B157 Gln N ϵ 2	M28 Glu O ϵ 1	3,0
B44 Lys N ζ	M29 Leu O	3,2
I33 Tyr O η	M31 Lys O	2,4

Im Bereich zwischen zwei Monomeren nahe zu PsaM finden sich einige nicht zu erklärende Elektronendichtebereiche, die evtl. durch Detergenzmoleküle modelliert werden können. In der Thylakoidmembran könnte deren Stelle wiederum durch Lipide eingenommen werden. Da PsaM sonst nur wenige bindende Wechselwirkungen eingeht, könnte die Untereinheit vorwiegend durch die Trimerbildung stabilisiert werden. Dies könnte erklären, warum in höheren Pflanzen kein an monomeres PS I gebundenes PsaM beobachtet wird. Entweder ist PsaM in höheren Pflanzen nicht vorhanden, was aufgrund der vorhandenen Gensequenz unwahrscheinlich erscheint, oder die Untereinheit wird bei der Präparation des Proteins herausgelöst.

Aus dem Strukturmodell lassen sich nur wenige Rückschlüsse auf die Funktion von PsaM ableiten. Arginin M24 koordiniert über ein oder zwei Wassermoleküle das Antennenchlorophyll aC-M1. Allerdings ist diese Koordination nicht ganz sicher, da sich dort einige Restelektronendichten befinden, die auf diese Art nicht vollständig zu erklären sind. Die Nähe von PsaM zum Karotinoid Cluster (6) und aC-B28, sowie die Bindung von aC-M1 deuten auf eine zumindest das Antennensystem stabilisierende Rolle dieser Untereinheit hin.


```

SYNEN  MAL TDTQVYVALVIALLPVLAFRLSTELYK - 31
SYNY3  MALSDTQILAALVVALLPAFLAFRLSTELYK - 31
PORPU  -MIDDSQIFVALLFALVSAVLAIRLGKELYQ - 30
CHLVU  MPIADSQVFIALFLALATGIFAVRLGVALYK - 31
PINTH  --MVELKFLIAFFLAFTAGILAIKLGQALYDC 30
      . .          *   *   .   *   . *   **

```

Abbildung 7.11: Überlagerung der Aminosäuresequenzen der Untereinheit PsaM aus verschiedenen Organismen. **SYNEN** *Synechococcus el.* (Mühlenhoff *et al.*, 1993), **SYNY3** *Synechocystis sp.* PCC 6803 (Kaneko *et al.*, 1996), **PORPU** *Porphyra purpurea* (Reith & Munholland, 1995), **CHLVU** *Chlorella vulgaris* (Wakasugi *et al.*, 1997), **PINTH** *Pinus thunbergii* (Wakasugi *et al.*, 1994). Jede zehnte Aminosäure ist fett gedruckt. Für eine Erklärung der verwendeten Symbole s. Abschnitt 5.1.

7.8 Psax

Bereits Ende der achtziger Jahre findet man in der Literatur Hinweise auf eine Psax genannte Untereinheit. Diese konnte allerdings nur in den Organismen *Synechococcus vulcanus* (Koike *et al.*, 1989) und *Anabaena variabilis* gefunden werden (Ikeuchi *et al.*, 1991). Die Aminosäuresequenz dieser Untereinheit konnte durch N-terminale Ansequenzierung des Proteins teilweise bestimmt werden (s. Abbildung 7.12). Im Gegensatz zu anderen

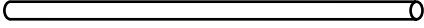
		
ANAVA	AKAKTPAVANTGAKPPYTFRTAXALLLLGVNFLVAAYYF - - - -	39
SYNVU	- - - - - ATKSAKPTYAFRTFXAVLLLA INFLVAAY - - - - -	29
SYNEN	- - - - - PTYAFRTFWAVLLLA INFLVAAYYFAAAA	35
Anseq	- - - - - AWKSAKPXXXF - - - - -	
	* * * * * . * * . * * * . . * * * * * * * *	

Abbildung 7.12: Überlagerung der Aminosäuresequenzen der Untereinheit Psax aus verschiedenen Organismen. **ANAVA** *Anabaena variabilis* (Ikeuchi *et al.*, 1991), **SYNVU** *Synechococcus vulcanus* (Koike *et al.*, 1989), **SYNEN** *Synechococcus el.* Die in der Zeile „**SYNEN**“ angegebene Sequenz entspricht dem in die Elektronendichteverteilung eingepaßten Modell. In der Zeile „Anseq“ ist die von W. Schröder bestimmte Sequenz einer in aufgelösten Kristallen gefundenen, bisher nicht sequenzierten Untereinheit angegeben. Jede zehnte Aminosäure ist fett gedruckt. Für eine Erklärung der verwendeten Symbole s. Abschnitt 5.1.

Untereinheiten wurde bisher noch keine zur Aminosäuresequenz passende Gensequenz ermittelt. Als Beispiel sei an dieser Stelle das vollständig sequenzierte Genom von *Synechocystis PCC6803* genannt, in dem sich keine zu Psax korrespondierende Sequenz findet (Kaneko *et al.*, 1996; Nakamura *et al.*, 1998).

Nach der Modellierung aller aus der Gensequenz bekannten Untereinheiten von PS I aus *Synechococcus el.* (Mühlenhoff *et al.*, 1993) verblieb in der Struktur eine Differenzelektrodendichte, die im wesentlichen in einer transmembranen α -Helix bestand. Diese befand sich in der Nähe der Untereinheiten Psax und Psab. Aufgrund der Güte der Elektrodendichteverteilung konnten Position und Typ einiger aromatischer Aminosäuren in der Helix bestimmt werden. Ein Vergleich mit den o. g. Aminosäuresequenzen zeigte, daß die aus der Elektronendichteverteilung abgeleitete Sequenz der Helix große Ähnlichkeit mit den Sequenzen von Psax besaß. Folgerichtig wurde die Elektronendichteverteilung auf Basis der beiden Sequenzen modelliert und die modellierte Helix als Untereinheit Psax bezeichnet. Unterstützt wird diese Annahme außerdem dadurch, daß beim Ansequenzieren der Proteine aus aufgelösten Kristallen ein N-terminaler Sequenzabschnitt gefunden wurde, der dem von Psax aus *Synechococcus vulcanus* sehr ähnlich ist (W. Schröder, per-

sönliche Mitteilung, s. Abbildung 7.12). Unglücklicherweise scheint der N-terminale Teil der Untereinheit fehlgeordnet zu sein, so daß von der ermittelten Sequenz nur die letzten fünf Aminosäuren in der Elektronendichteverteilung zu erkennen sind. Insgesamt konnten 29 Aminosäuren der Untereinheit modelliert werden, deren Abfolge weitgehend der Aminosäuresequenz von PsaX aus *Synechococcus vulcanus* (s. Abbildung 7.12) entspricht. Der N-Terminus der Untereinheit befindet sich auf der stromalen, der C-Terminus auf der lumenalen Seite der Membran.

Über die Funktion von PsaX innerhalb des PS I Komplexes ist aus biochemischen Arbeiten nichts bekannt. Allerdings zeigt das Strukturmodell, daß PsaX über Asparagin X23 das Antennenchlorophyll aC-X1 koordiniert. Das C-terminale Ende der Helix befindet sich in der Nähe des Chlorophyll-Trimers aC-B31/ac-B32/aC-B33 (s. Abschnitt 10.1.1). Somit kann PsaX auch eine Rolle bei der Stabilisierung des Chlorophyll-Trimers zukommen.

7.9 Die Kontakte zwischen den Monomeren

7.9.1 Die Trimerisierungsdomäne

Die Positionen, an denen die Monomere innerhalb des trimeren Komplexes miteinander wechselwirken, lassen sich grob in zwei Bereiche unterteilen: Wechselwirkungen in direkter Nähe zur dreizähligen Achse und Wechselwirkungen entfernt von der dreizähligen Achse (s. Abschnitt 7.9.2). Neben den direkten Wechselwirkungen zwischen den Proteinatomen unterschiedlicher Monomere finden sich auch einige Wechselwirkungen zwischen Kofaktor- und Proteinatomen, die verschiedenen Monomeren zugeordnet wurden. Außerdem wurde überraschenderweise eine Metallbindungsstelle gefunden, die zwei verschiedene Monomere einbindet (s. Abschnitt 7.9.3).

Die Wechselwirkungen in direkter Nähe zur dreizähligen kristallographischen Achse sind vorwiegend hydrophober Natur (s. Abbildung 7.13a). Die Umgebung der dreizähligen Achse wird im wesentlichen von Aminosäuren gebildet, die sich (mit der Ausnahme von Ile L44) in der transmembranen α -Helix L-g befinden. Neben den Atomen der Aminosäuren Phenylalanin L133, Valin 126, Isoleucin L44 und Glutamin L119 kommen sich an der dreizähligen Achse auch die drei symmetrieäquivalenten Karotinoide Car22 bis auf den van der Waals-Abstand nahe. In der Nähe der Achse fanden sich außerdem einige F_O - F_C -Differenzelektronendichten, die durch Wassermoleküle modelliert wurden. Mit Ausnahme von W136 können alle Wassermoleküle Wasserstoffbrückenbindungen zu benachbarten Molekülen ausbilden. Insbesondere ist hier die Umgebung des Wassermoleküls W148 interessant. Nach der Verfeinerung des Modells mit dem Wassermolekül W148 verblieb um das Molekül herum eine F_O - F_C -Differenzelektronendichte von ca. 4-5 σ oberhalb des Mittelwerts. Ein Blick auf die Umgebung zeigt, daß die Koordinationszahl für ein Wassermolekül an dieser Stelle mit ca. 9 Liganden zu groß ist. Daher wurde in einem nächsten Verfeinerungsschritt das Wassermolekül durch ein Ca^{2+} -Ion ersetzt. Einem Ca^{2+} -Ion wurde gegenüber einem Mg^{2+} -Ion der Vorzug gegeben, da letzteres ebenfalls zu klein für die Koordination durch 9 Liganden wäre. Gegen ein Metallion an dieser Stelle spricht jedoch das Vorhandensein dreier Glutamine, denn zur Kompensation der Ladung des Metallions werden stattdessen eher drei negativ geladene Aminosäuren wie z. B. Glutamate erwartet. Aufgrund der Ununterscheidbarkeit beider Aminosäuren anhand der Elektronendichteverteilung ist jedoch nicht eindeutig zu klären, ob an dieser Stelle tatsächlich ein Glutamin oder doch ein Glutamat vorliegt. Die Sequenzüberlagerung zeigt, daß es sich bei der äquivalenten Aminosäure in *Synechocystis* PCC 6002 tatsächlich um ein Glutamat handelt.

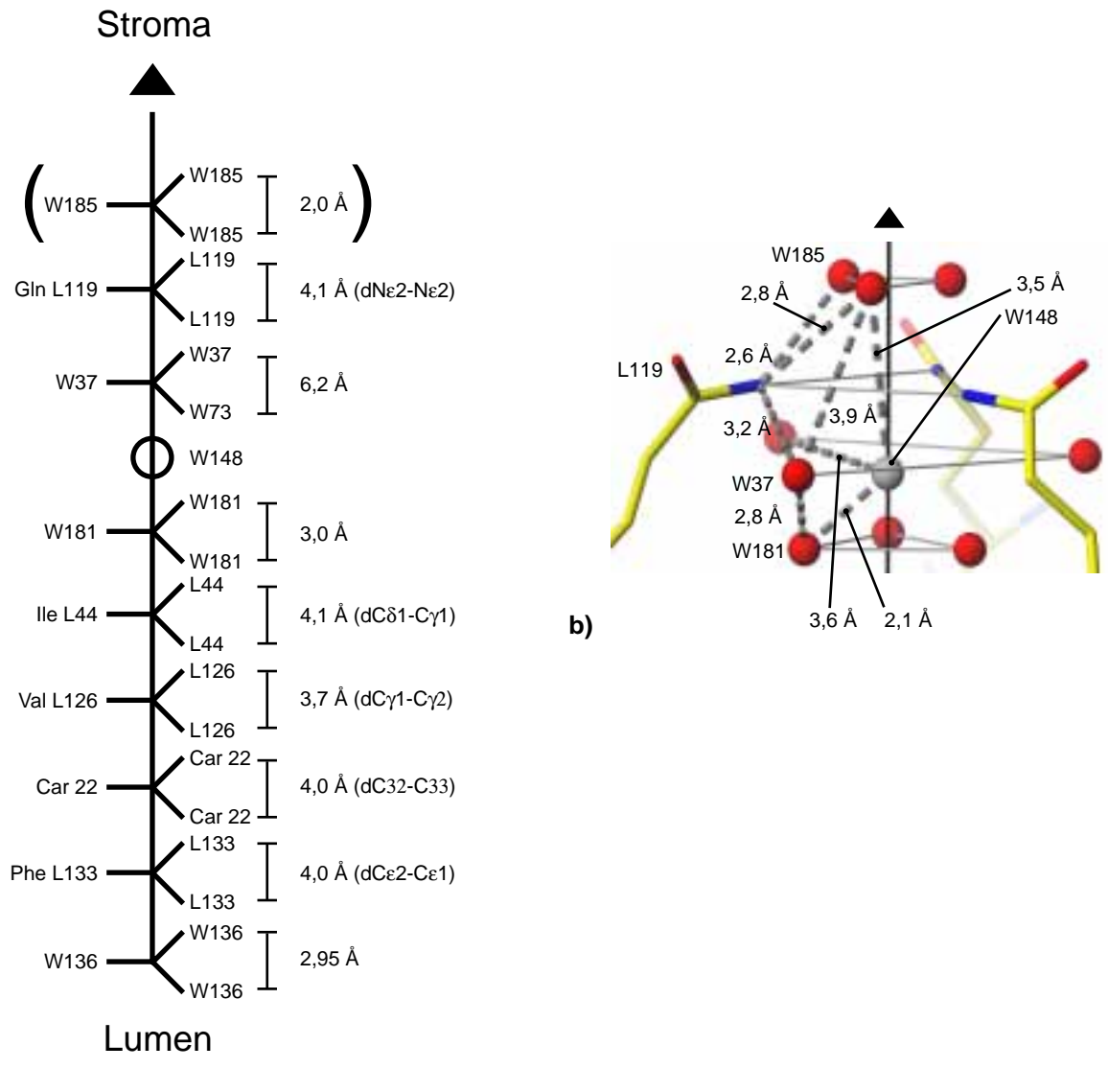


Abbildung 7.13: (a) Schematische Ansicht der Aminosäuren, Kofaktoren und Wassermoleküle in der Nähe der dreizähligen kristallographischen Achse. Für Aminosäuren und Karotine ist jeweils der kürzeste Abstand zwischen Atomen der gleichnamigen Moleküle angegeben. Wassermoleküle werden mit einem vorangestellten „W“ bezeichnet. Die Wechselwirkung zwischen den Wassermolekülen W185 ist zweifelhaft, da der Abstand zwischen ihnen zu gering ist (s. Text). (b) Detailansicht des vermeintlichen Wassermoleküls W148 (graue Kugel). In (a) angegebene Abstände zwischen symmetrieäquivalenten Atomen sind als durchgezogene graue Linien eingezeichnet. Gestrichelte Linien geben Abstände zwischen den übrigen Atomen an. Die schwarze Linie entspricht der dreizähligen kristallographischen Achse.

Da allerdings auch nach der erneuten Sequenzierung des PsaL Gens aus *Syn. el.* das Glutamin in Position 119 bestätigt wurde, ist das Vorliegen eines Glutamats an dieser Stelle sehr unwahrscheinlich. Nach der Verfeinerung des Ca^{2+} -Ions fand sich an dessen Position nun überraschenderweise eine F_O - F_C -Differenzelektronendichte von ca. 6σ unterhalb der mittleren Elektronendichte. Damit ist die Modellierung der Elektronendichte durch ein Ca^{2+} -Ion an dieser Stelle genauso fragwürdig wie die Modellierung durch ein Wassermolekül. Die Schwierigkeiten bei der Verfeinerung sind wahrscheinlich durch die spezielle Lage des Atoms auf der dreizähligen Achse begründet. Die Verfeinerung von Atomen auf speziellen Lagen ist naturgemäß ein schwieriges Problem für die Verfeinerungsprogramme, so daß die schlechte Interpretierbarkeit der Elektronendichte in dieser Region durchaus auf ein tiefgreifendes technisches Problem zurückzuführen sein könnte. Zusätzlich ist auch die Modellierung der Wassermoleküle W181 und W185 mit Unsicherheiten behaftet. Wie in Abbildung 7.13(a) zu erkennen, kommen sich die symmetrieäquivalenten Wassermoleküle W185 mit einem Abstand von $2,0\text{ \AA}$ näher als theoretisch sinnvoll erscheint. Dennoch wird die Elektronendichteverteilung durch diese Wassermoleküle gut erklärt. Ebenso ist auch das Vorhandensein der Wassermoleküle W181 nicht mit letzter Sicherheit zu klären. F_O - F_C -Differenzelektronendichten zeigen an dieser Stelle Maxima von ca. 3σ , die auf Wassermoleküle hindeuten. Bezieht man die Wassermoleküle in die Verfeinerung mit ein, so findet man an der Position der Wassermoleküle jedoch keine ausgeprägte $2F_O$ - F_C -Elektronendichte.

Abschließend kann demzufolge keine eindeutige Erklärung der Elektronendichte in dieser Region gegeben werden. Einen Hinweis auf die tatsächliche Natur des als Wasser W148 modellierten Atoms könnten eventuell Mutationsstudien an Aminosäure L119 geben. So sollte der Austausch des Glutamins gegen ein Glutamat oder ein Lysin im Falle eines dort vorhandenen Me^{2+} -Ions die Trimerbildung entweder begünstigen oder vermindern.

7.9.2 Andere Kontakte zwischen den Monomeren

Neben den vorwiegend hydrophoben Kontakten in der Nähe der dreizähligen Achse finden sich auch an anderen Stellen hydrophobe Kontakte und Wasserstoffbrückenbindungen zwischen verschiedenen Monomeren. Da an solchen Wechselwirkungen beteiligte Wassermoleküle nicht eindeutig zu einem bestimmten Monomer zuzuordnen sind, wurde in solchen Fällen das Wassermolekül willkürlich einem Monomer zugeordnet.

Abbildung 7.14 zeigt die an den Kontakten zwischen einzelnen Monomeren beteiligten Bereiche der Struktur. Der größte Teil der hydrophoben Wechselwirkungen und Wasser-

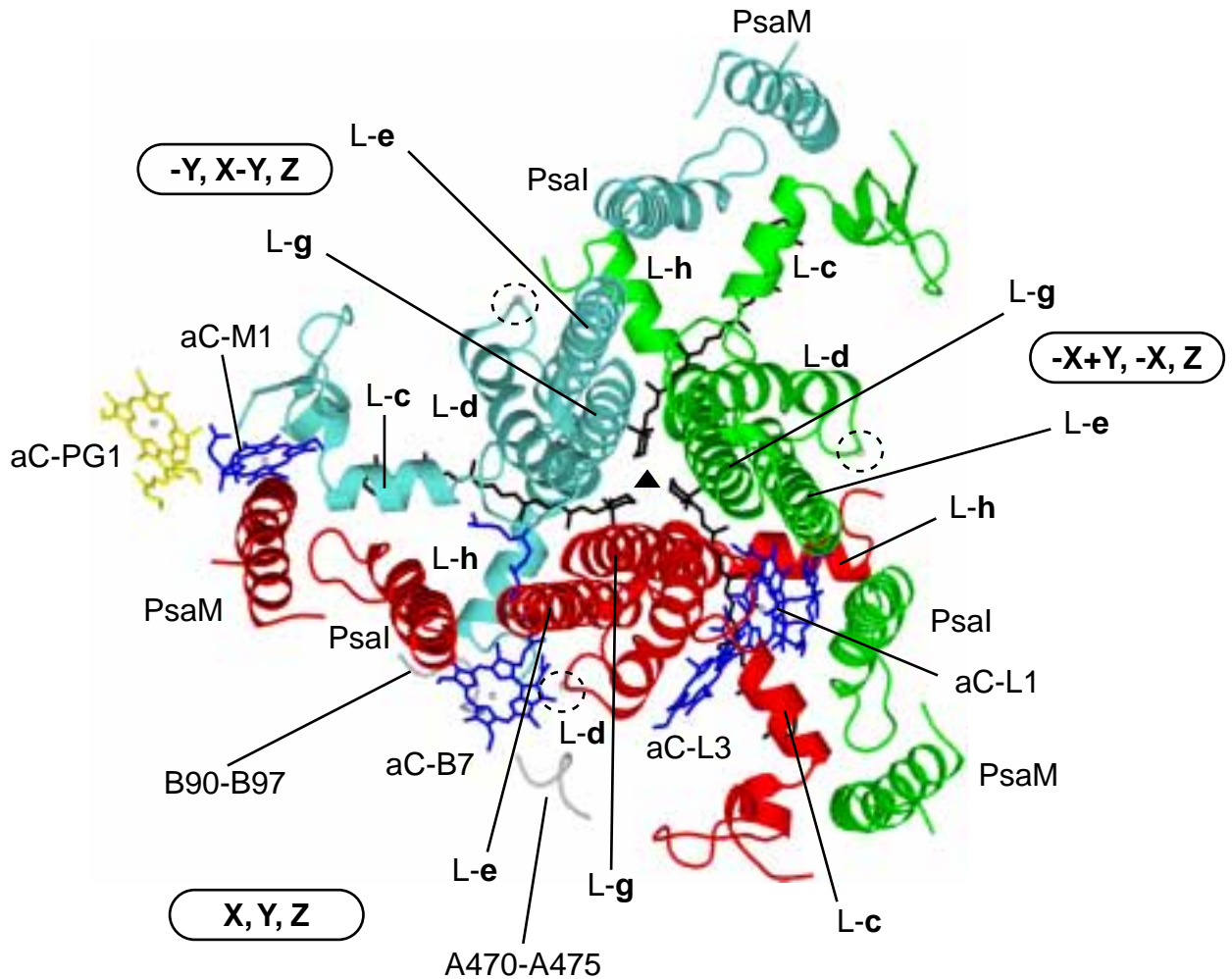


Abbildung 7.14: Die Monomer-Monomer-Kontaktstellen innerhalb des PS I Trimers. Dargestellt sind das „Ausgangs“-Monomer (rot; X,Y,Z) und die beiden gemäß der Raumgruppensymmetrie aus diesem generierten Monomere „-Y, X-Y, Z“ (hellblau) und „-X+Y, -X, Z“ (grün). Die dreizählige kristallographische Achse wird durch das schwarze Dreieck symbolisiert. Die Metall-Bindungsstelle ist mit einem unterbrochenen Kreis markiert. An der dreizähligen Achse sind die drei symmetrieäquivalenten Karotine Car22 eingezeichnet. Von den Chlorophyllen an den Monomer-Monomer-Kontaktflächen sind aus Gründen der Übersichtlichkeit nur die mit dem „Ausgangs“-Monomer wechselwirkenden Chlorophylle eingezeichnet. Die dem „Ausgangs“-Monomer zugeordneten Chlorophylle sind in blau, daß zum hellblauen Monomer gehörende Chlorophyll aC-PG1 in gelb dargestellt.

stoffbrückenbindungen geht von den Untereinheiten PsaI und PsaL aus. Dabei kommen sich die Untereinheiten der verschiedenen Monomere nicht nur nahe, sondern sind miteinander eng verzahnt. So ragt die α -Helix L-h zwischen die transmembrane Helix von PsaI und die transmembrane Helix L-e von PsaL eines benachbarten Monomers. Aufgrund der besonderen Position dieser Helix kann diese auch van-der-Waals-Wechselwirkungen mit den Aminosäuren B90-B97 und A470 und A472 des benachbarten Monomers ausbilden. Eine Metallbindungsstelle (s. Abschnitt 7.9.3) am Ende der α -Helix L-h trägt zu einer zusätzlichen Stabilisierung der Struktur in dieser Region bei.

Die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen verschiedenen Monomeren sind in Tabelle 7.6 auf Seite 96 aufgelistet. Abgesehen von den Protein-Protein Wechselwirkungen in der Nähe der Metallbindungsstelle gibt es noch weitere Wasserstoffbrücken zwischen den Aminosäuren benachbarter Monomere. Hervorzuheben sind hierbei die beiden Wasserstoffbrückenbindungen auf der stromalen Seite des Komplexes zwischen den N-terminalen Enden der Helices L-d und L-g (s. Tabelle 7.6). Der Tabelle kann man außerdem entnehmen, daß Wasserstoffbrückenbindungen nicht nur direkt zwischen den Aminosäuren der benachbarten Monomere ausgebildet werden, sondern daß auch einige Wasserstoffbrücken über Wassermoleküle vermittelt werden.

So kann das Wassermolekül W60 zum einen eine Wasserstoffbrückenbindung mit dem Hauptkettensauerstoffatom von L94 ausbilden ($d_{O-O}=2,8 \text{ \AA}$) und zum anderen mit dem Wassermolekül W134 wechselwirken. W134 befindet sich $2,9 \text{ \AA}$ entfernt zum N η von Arginin L38 eines benachbarten Monomers. Die dritte mögliche Wasserstoffbrückenbindung kann W134 zu dem Wassermolekül W33 ausbilden, welches wiederum $2,8 \text{ \AA}$ von O ϵ 1 von L49 eines benachbarten Monomers bzw. $3,1 \text{ \AA}$ vom Methoxysauerstoff der Ring V Keto-gruppe von aC-L1 eines benachbarten Monomers entfernt ist.

Auf ähnliche Weise wird auch über die Wassermoleküle W14 und W62 eine Verbindung zwischen zwei Monomeren erreicht.

Neben den o. g. Wechselwirkungen zwischen Protein und Wassermolekülen finden sich an den Monomer-Monomer-Kontaktflächen auch einige Kofaktoren. Wie bereits im vorangegangenen Abschnitt gezeigt, kommen sich die drei symmetrieäquivalenten Karotinoide Car22 an der dreizähligen Achse bis auf $4,0 \text{ \AA}$ nahe. Es handelt sich bei diesem Karotinoid um das einzige, das mit zwei verschiedenen Monomeren hydrophobe Wechselwirkungen eingeht. Im Gegensatz dazu finden sich jedoch fünf Chlorophylle, die in Nachbarschaft zu Aminosäuren oder Kofaktoren anderer Monomere liegen (gelbes und blaue Chlorophylle in Abbildung 7.14). Es sind das von PsaM koordinierte Chlorophyll aC-M1, aC-B7,

aC-PG1, sowie die beiden Chlorophylle aC-L1 und aC-L3. Diese Chlorophylle bilden eine Vielzahl von (mehrheitlich hydrophoben) Wechselwirkungen mit den anderen Monomeren aus. Im Hinblick auf die Funktion innerhalb des Antennensystems ist hier aC-B7 besonders interessant, da es vermutlich zu den roten Chlorophyllen zählt, die beim Übergang von trimeren in monomere Komplexe verloren gehen (s. Abschnitt 10.1.1).

Tabelle 7.6: Mögliche Wasserstoffbrückenbindungen zwischen verschiedenen Monomeren innerhalb eines Trimers. In der ersten Spalte sind die Aminosäuren des Ausgangsmonomers eingetragen. In der zweiten Spalte sind die Aminosäuren des in Wechselwirkung stehenden symmetrieäquivalenten Monomers eingetragen. Die Symmetrieoperation, die das Monomer der ersten Spalte in das der zweiten Spalte überführt ist in der letzten Spalte angegeben. Mit (†) bezeichnete Wechselwirkungen befinden sich in der Nähe zur Metall-Bindungsstelle (s. Abschnitt 7.9.3).

Donor/Akzeptor	Donor/Akzeptor	Abst. (Å)	Monomer
472A Gln Nε2	154L Asn O †	3.0	1: -Y, X-Y, Z
12I Trp Nε1	146L Asp Oδ1	2.8	1: -Y, X-Y, Z
40L Gly O	114L Ser Oγ	2.7	2: -X+Y, -X, Z
42L Ser N	118L Ser Oγ	2.9	2: -X+Y, -X, Z
49L Glu Oε1	W33 O1	2.8	2: -X+Y, -X, Z
114L Ser Oγ	40L Gly O	2.7	1: -Y, X-Y, Z
118L Ser Oγ	42L Ser N	2.9	1: -Y, X-Y, Z
146L Asp Oδ1	12I Trp Nε1	2.8	2: -X+Y, -X, Z
153L Phe O	67L Pro O †	3.5	2: -X+Y, -X, Z
	W179 O †	2.9	2: -X+Y, -X, Z
	W177 O †	3.1	2: -X+Y, -X, Z
	Ca ²⁺ †	2.4	2: -X+Y, -X, Z
	W180 O †	3.2	2: -X+Y, -X, Z
154L Asn O	472A Gln Nε2 †	3.0	2: -X+Y, -X, Z
154L Asn O	W180 O †	3.0	2: -X+Y, -X, Z
W14 O	W62 O	2.7	1: -Y, X-Y, Z
W33 O	W134 O	2.9	1: -Y, X-Y, Z
	aC-L1 Chl O2D	3.1	1: -Y, X-Y, Z
W60 O	W134 O	2.7	1: -Y, X-Y, Z
W177 O	153L Phe O †	3.1	1: -Y, X-Y, Z
	154L Asn Oδ1 †	3.3	1: -Y, X-Y, Z
W179 O	153L Phe O †	2.9	1: -Y, X-Y, Z
W180 O	153L Phe O †	3.2	1: -Y, X-Y, Z
	154L Asn Nδ2 †	3.0	1: -Y, X-Y, Z
W69 O	L94 Ala O	2,8	1: X, Y, Z
W134 O	L38 Arg Nη	2,9	1: X, Y, Z

7.9.3 Eine Metallionen-Bindungsstelle

Nach der Modellierung aller Aminosäuren verblieb am C-terminalen Ende von PsaL eine sehr ausgeprägte kugelförmige F_O-F_C -Differenzelektronendichte. Diese war von einigen kleineren Differenzelektronendichten umgeben. Ca. 3,0 Å bis 5,0 Å entfernt von dieser Elektronendichte fanden sich außerdem das Aspartat A473 aus PsaA des gleichen Monomers und Aspartat L70 von PsaL eines benachbarten Monomers. Aufgrund des Vorhandenseins zweier potentiell negativ geladener Aminosäuren in der Nähe der Differenzelektronendichte wurde diese durch ein Metallion erklärt. Da die einzige wesentlich bei der Präparation des Proteins verwendete ionische Verbindung $MgSO_4$ war, lag es zunächst nahe, die Elektronendichte durch ein Magnesium-Ion zu modellieren. In der Literatur findet sich hingegen ein Hinweis darauf, daß in PS I-Präparationen aus *Synechocystis* PCC 6803 bei Abwesenheit von Ca^{2+} -Ionen mehr monomere als trimere Komplexe vorliegen. Darüberhinaus konnten nur in trimeren Komplexen Ca^{2+} -Ionen nachgewiesen werden (pers. Mitteilung, zitiert in Chitnis, 1996). Die Elektronendichteverteilung in der Nähe des vermutlichen Metallions wurde mit vier Wassermolekülen modelliert, so daß sich in der Nähe des Ions insgesamt sieben mögliche Liganden finden (s. Abbildung 7.15 und Tabelle 7.7). Die Liganden sind um das Ca^{2+} -Ion in Form einer pentagonalen Bipyramide angeordnet. Betrachtet man die in Tabelle 7.7 angegebenen Abstände zwischen dem Metallion und

Tabelle 7.7: Die Liganden des vermutlichen Ca^{2+} Ions. Das Phenylalanin L153 entstammt einem anderen Monomer (-Y, X-Y, Z) als die anderen an der Koordination beteiligten Aminosäuren. Der den Liganden vorangestellte Buchstabe bezieht sich auf die in Abbildung 7.15 eingezeichneten Wasserstoffbrückenbindungen.

Donor	Abstand (Å)
a) Wasser W180	2,7
b) L153 Phe O	2,4
c) Wasser W177	2,6
d) Wasser W178	2,4
e) L70 Asp OD1	2,6
f) Wasser W179	2,3
g) L67 Pro O	2,3

den Liganden, so findet man keinen Abstand unter 2,2 Å. Tatsächlich betragen die meisten Abstände 2,3 Å bis 2,6 Å. Damit sind diese für ein Mg^{2+} -Ion zu groß und deuten auf das Vorhandensein eines Ca^{2+} -Ions hin (Harding, 1999). Ferner wäre die Koordinations-

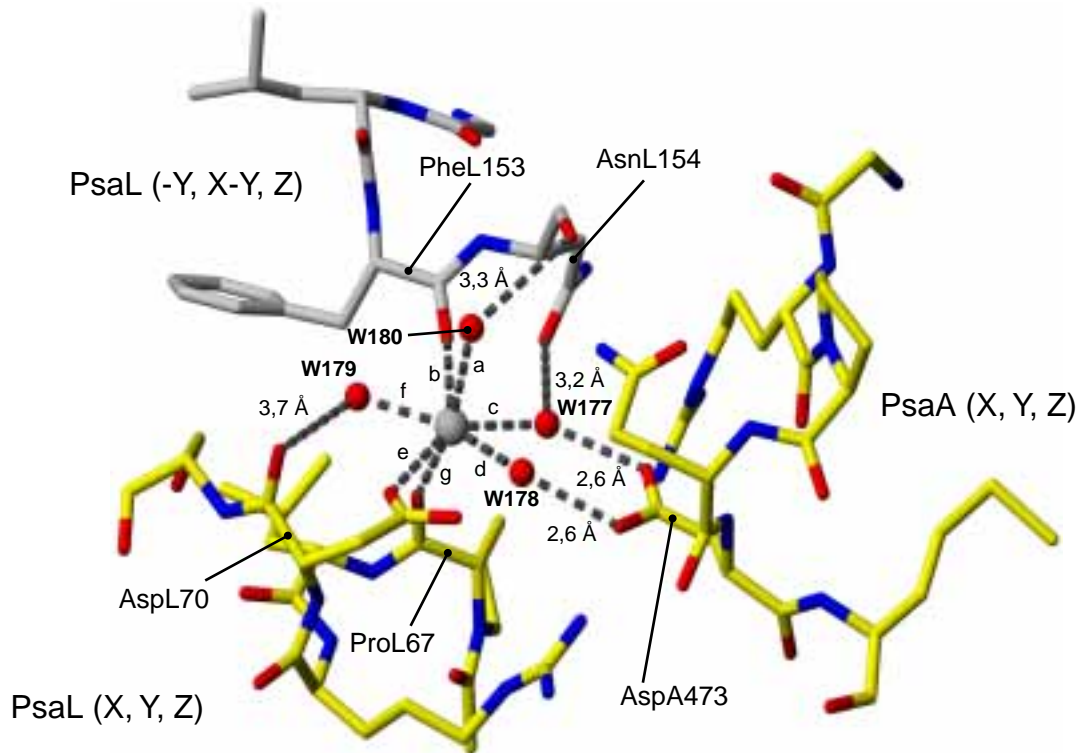


Abbildung 7.15: Die Ca^{2+} -Ionen Bindungsstelle. Das Ca^{2+} -Ion wird als graue Kugel, die Wassermoleküle als rote Kugeln dargestellt. Wiedergegeben sind ferner die die Bindungsstelle umgebenden Aminosäuren von PsaL und PsaA des gleichen Monomers (gelb) und die Aminosäuren von PsaL des benachbarten Monomers. Wasserstoffbrückenbindungen sind als schwarze gestrichelte Linien eingezeichnet. Die Längen der mit den Buchstaben a-g bezeichneten Wasserstoffbrückenbindungen, die direkt zum Ca^{2+} -Ion führen, sind Tabelle 7.7 zu entnehmen.

zahl von 7 für ein Mg^{2+} -Ion ungewöhnlich, was daher ebenfalls für das Vorliegen eines Ca^{2+} -Ions spricht. Deshalb wurde die Elektronendichteverteilung in der abschließenden Verfeinerung mit einem Ca^{2+} -Ion modelliert. Der Temperaturfaktor des Ca^{2+} -Ions liegt mit 29 \AA^2 in der gleichen Größenordnung wie die Temperaturfaktoren benachbarter Atome. Damit ist die Existenz eines Ca^{2+} -Ions an dieser Stelle unzweifelhaft, da im Falle des Vorliegens eines Mg^{2+} -Ions ein ungewöhnlich großer Temperaturfaktor für das modellierte Ca^{2+} -Ion resultieren müsste.

7.9.4 Gründe für das Ausbilden trimerer PS I-Komplexe

Wie in der Einleitung zu Abschnitt 7.6 erwähnt, ist die oligomere Form des PS I von der Art des Organismus abhängig. Die *in vivo* überwiegend vorliegende Form von cyanobakteriellem PS I ist vermutlich das Trimer (Hladik & Sofrova, 1991). Abhängig von der Präparation kann jedoch auch monomeres PS I aus Cyanobakterien isoliert werden

(Fromme & Witt, 1998; Chitnis & Chitnis, 1993; Kruij *et al.*, 1999). Um die Gründe für dieses Verhalten zu finden, soll auf die Unterschiede in den Aminosäuresequenzen der verschiedenen Organismen an den vermutlich für die Trimerisierung wichtigen Stellen eingegangen werden.

Die Ca^{2+} -Bindungsstelle scheint eine wichtige Funktion bei der Ausbildung der Trimere zu spielen. Die Sequenzüberlagerung von PsaA verschiedener Organismen in dieser Region zeigt, daß Aspartat A473 zwischen allen betrachteten Organismen konserviert ist.

Unterschiede finden sich hingegen in der Sequenzüberlagerung von PsaL (Abbildung 7.8). Die Aminosäuren von PsaL, die direkt oder indirekt an der Koordination des Ca^{2+} -Ions beteiligt sind, sind zwischen *Syn. el.* und *Synechocystis* PCC6803 konserviert. Bei der zu Aspartat L70 analogen Aminosäure in *Synechococcus* PCC7002 und höheren Pflanzen handelt es sich hingegen um das ungeladene Asparagin. Alle anderen Aminosäuren von PsaL in dieser Region sind hingegen identisch. Auffällig ist ferner, daß die Sequenzen von PsaL aus *Synechococcus el.* und *Synechocystis* PCC6803 am C-Terminus fünf Aminosäuren länger ist als die in höheren Pflanzen. Abbildung 7.15 zeigt deutlich, daß diese letzten fünf Aminosäuren einen unverzichtbaren Teil der Ca^{2+} -Bindungsstelle darstellen. Somit ist es möglich, daß dieser Teil der Struktur einen Einfluß auf das Vorliegen monomerer und trimerer Komplexe hat. Dies ist insbesondere deshalb wahrscheinlich, da die Aminosäuresequenzen von *Syn. el.* und *Synechocystis* PCC6803 in dieser Region nahezu identisch sind und für letzteren Organismus die Auswirkungen von Ca^{2+} -Ionen auf die Trimerstabilisierung bereits gezeigt wurden (Chitnis, 1996).

An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, daß die Entfernung von PsaI aus dem PS I-Komplex das Verhältnis von monomeren zu trimeren PS I Komplexen aus *Synechocystis* PCC6803 zugunsten der Monomere erhöht und PsaL destabilisiert (Xu *et al.*, 1995). Trotz der geringen Zahl von Wechselwirkungen zwischen PsaI und PsaL findet sich eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen diesen beiden Untereinheiten zwischen TrpI12 und AspL146 (s. Tabelle 7.6). Diese Wasserstoffbrücke liegt in der Sequenz kurz vor der Ca^{2+} -Bindungsstelle. Eine Entfernung von PsaI könnte also einen Einfluß auf die Faltung in diesem strukturell wichtigen Bereich haben. Der Vergleich der N-terminalen Aminosäuren von PsaI zwischen Cyanobakterien und höheren Pflanzen (s. Abbildung 7.4) zeigt, daß das Tryptophan nur in *Syn. el.* und *Synechocystis* PCC6803 existiert. Außerdem ist der N-Terminus in höheren Pflanzen kürzer als in allen Cyanobakterien. Die Unterschiede zwischen den PsaI-Sequenzen sind somit ein weiteres Indiz für das Vorliegen monomerer PS I Komplexe in höheren Pflanzen. Als alleinige Ursache für diesen Sachverhalt dürften

die Unterschiede in PsaI jedoch nicht ausreichen. Vielmehr wird der Grund für die Ausbildung monomerer Komplexe im Zusammenspiel einer Vielzahl von kleineren Änderungen (s. o.) zwischen höheren Pflanzen und Cyanobakterien liegen.